

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan kelainan hiperproliferatif yang melibatkan transformasi morfologik selular, disregulasi apoptosis, proliferasi sel yang tidak terkontrol, invasi, angiogenesis, dan metastasis (Lin dan Karin, 2007). Dari berbagai penelitian diketahui bahwa inflamasi kronis memiliki peran penting dalam patogenesis kanker (Meira *et al.*, 2008). Hubungan antara inflamasi kronis dan kanker telah dicetuskan sejak 150 tahun yang lalu, ketika Virchow menemukan bahwa kanker lebih sering terjadi pada bagian tubuh yang mengalami inflamasi kronis (Lu *et al.*, 2006).

Salah satu contoh penyakit inflamasi kronis yang berhubungan dengan kanker adalah *inflammatory bowel disease* (IBD). IBD meliputi dua kelainan, yaitu *Crohn's disease* (CD) dan *ulcerative colitis* (UC) (Popivanova *et al.*, 2008). IBD kronis meningkatkan risiko terjadinya kanker kolorektal (Gommeaux *et al.*, 2007; Burstein dan Fearon, 2008; Meira *et al.*, 2008). Kolitis dengan onset dini, derajat berat, dan berlangsung dalam waktu lama akan semakin meningkatkan risiko terjadinya kanker kolorektal (Itzkowitz dan Yio, 2004; Burstein dan Fearon, 2008).

Kanker kolorektal merupakan penyebab kematian kedua akibat kanker pada orang dewasa (Markowitz dan Bertagnolli, 2009). Setiap tahunnya, \pm 1 juta kasus kanker kolorektal terdiagnosis di seluruh dunia dan sekitar 5% kasus UC berkembang menjadi kanker kolorektal (Meira *et al.*, 2008). Risiko kanker kolorektal pada pasien yang menderita kolitis kronis selama 10 tahun mencapai 2% dan 18% pada pasien dengan kolitis kronis selama 30 tahun (Wilson, 2009).

Hubungan antara kolitis dengan kanker kolorektal juga telah diteliti pada model hewan untuk mendapatkan pengetahuan yang lebih baik tentang *colitis-associated cancer* (CAC). Pada penelitian dengan model hewan digunakan mencit yang diinjeksi *azoxymethane* (AOM) yang merupakan prokarsinogen kolon,

dilanjutkan dengan pemberian *dextran sulfate sodium* (DSS) selama 5-7 hari melalui air minum. Setelah perlakuan selama 3 siklus, atau sekitar 1-2 bulan, hampir 100% mencit menderita neoplasma kolon (Burstein dan Fearon, 2008; Tanaka, 2009). Pada induksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS, mencit galur Balb/c memiliki insidensi tumor tertinggi jika dibandingkan dengan galur C3H/He, C57BL/6, dan DBA/2 (Tanaka, 2009).

Nuclear factor κ B (NF- κ B) merupakan faktor transkripsi yang meregulasi sistem imun, respons inflamasi, proliferasi sel, dan apoptosis. Pada mulanya diketahui bahwa NF- κ B berfungsi untuk mengatur respons imun baik yang *innate* maupun *adaptive*, kemudian ditemukan bahwa NF- κ B juga berperan penting dalam proses inflamasi, bahkan dalam proses perkembangan inflamasi kronis menjadi kanker (Karin dan Greten, 2005; Ghosh dan Hayden, 2008). Dari berbagai penelitian, pada IBD dan kanker kolorektal ditemukan peningkatan aktivitas NF- κ B, yang menunjukkan peranannya dalam patogenesis penyakit-penyakit tersebut (Karin dan Greten, 2005; Pasparakis, 2009; Wang *et al.*, 2009).

Peranan NF- κ B dalam tumorigenesis adalah dengan merangsang terjadinya inflamasi kronis (Yamamoto dan Gaynor, 2001), menekan apoptosis dan merangsang proliferasi sel tumor (Karin dan Greten, 2005; Lin dan Karin, 2007). Karena perannya dalam inflamasi dan karsinogenesis, penghambatan NF- κ B menjadi salah satu pilihan terapi untuk penyakit inflamasi dan kanker, termasuk diantaranya kanker kolorektal (Tak dan Firestein, 2001; Luo *et al.*, 2005; Ghosh dan Hayden, 2008; Wang *et al.*, 2009). Pada penelitian *in vivo* menggunakan mencit yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS, delesi *inhibitor of NF- κ B kinase- β* (IKK- β), yang merupakan aktivator NF- κ B, pada sel epitel usus dan sel myeloid menurunkan insidensi dan ukuran tumor (Greten *et al.*, 2004; Karin, 2008).

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) berasal dari Papua dan dipercaya oleh masyarakat dapat meningkatkan daya tahan tubuh. Dewasa ini, buah merah banyak dipakai untuk pengobatan penyakit inflamasi dan kanker. Buah merah merupakan sumber antioksidan eksogen yang banyak mengandung β -karoten, β -*cryptoxanthin*, dan α -tokoferol. Secara empiris, khasiat buah merah sudah banyak

terbukti tapi penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005; Machmud Yahya dan Bernard Wahyu Wiryanta, 2005; Ingrid Surono *et al.*, 2008).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian sari buah merah sebanyak 0,1 ml/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit dan terjadi penurunan kadar IFN- γ pada mencit yang diinokulasi dengan *Listeria monocytogenes* (Hana Ratnawati dkk., 2008; Khie Khiong dkk., 2009). Pemberian sari buah merah pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS terbukti dapat meningkatkan proliferasi limfosit dan menurunkan derajat keparahan kolitis yang dinilai melalui *clinical score colitis* (Khie Khiong dkk., 2008). Selain itu, *β -cryptoxantin* dalam sari buah merah dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru-paru secara *in vitro* (Ingrid Surono *et al.*, 2008). Pemberian β -karoten dosis rendah (100-200 ppm) dapat menurunkan formasi *abberant crypt foci* (ACF) pada tikus yang diinduksi dengan AOM (Raju *et al.*, 2005). Penelitian lain secara *in vitro* menunjukkan bahwa pemberian antioksidan vitamin C dan α -tokoferol pada sel dendritik dapat menghambat aktivasi NF- κ B (Tan *et al.*, 2005).

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, diharapkan sari buah merah yang berperan sebagai antioksidan dapat mencegah kanker kolorektal dengan menghambat aktivasi NF- κ B pada mencit galur Balb/c yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah sari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) menurunkan kadar NF- κ B serum pada mencit model kanker kolorektal.

1.3 Maksud dan Tujuan

1.3.1 Maksud

Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi sari buah merah dalam mencegah kanker kolorektal yang didahului kolitis kronis.

1.3.2 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sari buah merah dalam menurunkan kadar NF- κ B serum pada mencit model kanker kolorektal.

1.4 Manfaat Karya Tulis Ilmiah

Manfaat akademis adalah untuk memperluas wawasan pembaca mengenai buah merah sebagai tanaman obat yang dapat mencegah terjadinya kanker kolorektal yang didahului kolitis kronis.

Manfaat praktis menunjukkan peranan sari buah merah dalam menghambat aktivasi NF- κ B pada mencit model kanker kolorektal.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Inflamasi kronis, baik yang disebabkan infeksi maupun iritasi kimia seringkali mendahului penyakit kanker (Vakkila dan Lotze, 2004). Dewasa ini, telah diketahui bahwa perkembangan kanker yang berasal dari inflamasi kronis merupakan suatu proses yang bergantung pada sel-sel radang dan mediator-mediator inflamasi seperti sitokin, kemokin, dan enzim yang kemudian menciptakan suatu *inflammatory microenvironment*. Keadaan ini yang kemudian

memfasilitasi perkembangan kanker melalui berbagai *signaling pathway* (Lu *et al.*, 2006; Bollrath dan Greten, 2009).

Karsinogenesis dapat dibagi menjadi tiga tahap, yaitu inisiasi, promosi, dan progresi. Pada fase inisiasi tumor terjadi kerusakan DNA berupa mutasi yang menyebabkan aktivasi onkogen atau inaktivasi gen supresor tumor. Pada fase promosi terjadi peningkatan proliferasi dan penurunan kematian sel tumor. Selanjutnya, invasi dan metastasis serta peningkatan masa tumor merupakan karakteristik fase progresi. Imunitas dan inflamasi dapat mempengaruhi ketiga proses ini melalui aktivasi sel-sel radang dan produksi sitokin-sitokin, faktor pertumbuhan, dan *matrix metalloproteinases* (MMPs), yang akhirnya meningkatkan proliferasi, invasi, dan metastasis sel tumor (Karin dan Greten, 2005).

Pada proses inflamasi kronis, neutrofil dan makrofag akan mengeluarkan *reactive oxygen and nitrogen species* (RONS) yang merupakan oksidan poten. Sebenarnya, sel memiliki antioksidan endogen sebagai mekanisme pertahanan terhadap RONS yang pada keadaan fisiologis dihasilkan sebagai sisa metabolisme sel. Hanya saja pada proses inflamasi kronis terjadi akumulasi RONS yang berlebihan. Adanya ketidak-seimbangan antara oksidan dan antioksidan menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang dapat menimbulkan kerusakan DNA, oksidasi protein, dan peroksidasi lemak (Asehnoune *et al.*, 2004; Karin dan Greten, 2005; Surh *et al.*, 2005; Gommeaux *et al.*, 2007; Meira *et al.*, 2008; Oyagbemi *et al.*, 2009). Selain itu, RONS juga diduga dapat mengaktivasi NF- κ B melalui jalur *Toll-like receptor-4* (TLR-4) (Asehnoune *et al.*, 2004; Frederico, 2007; Haliwell, 2007).

NF- κ B merupakan faktor transkripsi yang bila teraktivasi dapat menginduksi transkripsi gen yang berperan dalam imunitas, inflamasi, proliferasi sel, dan apoptosis (Gommeaux *et al.*, 2007). NF- κ B dapat merangsang terjadinya inflamasi dengan menginduksi transkripsi sitokin-sitokin proinflamasi, reseptor sitokin, kemokin, molekul adhesi, dan enzim-enzim seperti MMPs, *cyclooxygenase-2* (COX-2), dan *inducible nitric oxide* (iNOS). Sitokin proinflamasi yang diinduksi NF- κ B seperti IL-1 dan TNF- α selanjutnya dapat merangsang kembali aktivasi

NF- κ B (*feedback positive mechanism*), sehingga inflamasi dapat dipertahankan dalam waktu yang lama (inflamasi kronis) (Yamamoto dan Gaynor, 2001). NF- κ B juga menekan apoptosis sel tumor, salah satu caranya adalah dengan menginduksi transkripsi gen antiapoptosis seperti Bcl-2 (Luo *et al.*, 2005). Diduga mekanisme molekuler yang menghubungkan antara inflamasi dan kanker adalah aktivasi NF- κ B yang terutama berperan pada fase promosi tumor (Karin dan Greten, 2005; Luo *et al.*, 2005).

Penelitian menggunakan model hewan juga telah menunjukkan hubungan antara inflamasi kronis dan kanker. Pada model kanker kolorektal, mencit diinjeksi secara intraperitoneal dengan prokarsinogen AOM yang kemudian akan mengalami aktivasi metabolik di sel epitel usus, dilanjutkan dengan pemberian DSS secara per oral, yang menginduksi kolitis kronis melalui toksisitas langsung terhadap sel, peningkatan permeabilitas membran sel, dan aktivasi makrofag (Kim *et al.*, 2006; Tanaka, 2009). DSS juga menyebabkan kerusakan barrier usus, sehingga makrofag di lamina propria dapat berinteraksi dengan bakteri usus. Aktivasi makrofag oleh bakteri usus menyebabkan aktivasi NF- κ B, yang kemudian menginduksi produksi dan sekresi sitokin proinflamasi pada sel epitel usus (Karin dan Greten, 2005). Aktivasi NF- κ B pada sel epitel usus akan mengaktifkan jalur *prosurvival*, sehingga sel dapat menghindari dari apoptosis. Selain itu, aktivasi NF- κ B pada sel imun akan merangsang produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α yang membantu pertumbuhan sel tumor (Karin dan Greten, 2005; Burstein dan Fearon, 2008; Meira *et al.*, 2008).

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) merupakan tanaman yang berasal dari Papua, Indonesia. Dewasa ini, buah merah dipercaya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, termasuk diantaranya penyakit inflamasi dan kanker (I Made Budi, 2005). Buah merah merupakan sumber antioksidan eksogen, mengandung karotenoid, alfa-tokoferol, asam oleat, asam linoleat, asam linolenat dan dekanoat, omega-3 dan omega-9 (I Made Budi, 2005). Kandungan rata-rata antioksidan per 100 g buah merah termasuk tinggi, yaitu 1.980 μ g β -karoten, 1.460 μ g β -cryptoxanthin, dan 21,2 mg α -tokoferol (Ingrid Surono *et al.*, 2008).

Selain mencegah akumulasi RONS, α -tokoferol yang bersifat larut dalam lemak juga mencegah terjadinya peroksidasi lipid akibat stres oksidatif, sehingga integritas membran sel tetap terjaga (Asehnoune *et al.*, 2004). Penelitian secara *in vitro* juga menunjukkan bahwa β -karoten dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolon dengan cara menginduksi apoptosis (Raju *et al.*, 2005). Selain itu, pemberian antioksidan pada sel neutrofil yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) secara *in vitro* menghambat aktivasi NF- κ B dan produksi sitokin proinflamasi (Asehnoune *et al.*, 2004).

Pada penelitian ini, antioksidan yang terkandung dalam buah merah diharapkan dapat mencegah akumulasi RONS yang dihasilkan pada proses kolitis kronis, dan menghambat aktivasi NF- κ B, sehingga dapat mencegah terjadinya kanker kolorektal.

1.5.2 Hipotesis

Sari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) menurunkan kadar NF- κ B serum pada mencit model kanker kolorektal.

1.6 Metodologi

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancang Acak Lengkap (RAL). Kadar NF- κ B serum diukur dengan menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dan dibaca menggunakan alat *ELISA plate reader*. Analisis statistik menggunakan uji ANAVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey HSD, dengan tingkat kepercayaan 95% yang mana suatu perbedaan dikatakan bermakna bila nilai $p \leq 0,05$.