

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolorektal merupakan kanker tersering kedua di negara–negara barat, dan menyebabkan 55.000 kematian penduduk Amerika Serikat pada tahun 2005 (Gommeaux *et al.*, 2007). *Inflammatory bowel disease* (IBD), baik *ulcerative colitis* (UC) maupun *Crohn's disease* (CD) merupakan faktor risiko tinggi yang memicu kanker kolorektal dan sekitar 5% kasus UC akan berkembang menjadi kanker kolorektal (Itzkowitz and Yio, 2004; Meira *et al.*, 2008).

Hubungan antara UC dengan kanker kolorektal telah diteliti pada hewan model untuk mendapatkan pengetahuan yang lebih baik tentang *colitis-associated cancer*. Pada penelitian Burstein dan Fearon menggunakan hewan model yang diinjeksi *azoxymethane* (AOM), suatu prokarsinogen kolon, dilanjutkan dengan pemberian *dextran sulfate sodium* (DSS) didapatkan hampir 100% mencit menderita neoplasma kolon (Burstein dan Fearon, 2008; Tanaka, 2009).

Inflamasi aktif merangsang aktivasi sistem imun spesifik dan nonspesifik (Hussain and Harris, 2007). Leukosit dan sel fagositik akan mengekskresikan sitokin dan kemokin proinflamasi, seperti IFN- γ , faktor pertumbuhan, dan *matrix-degrading enzym*, yang berpengaruh terhadap homeostasis sel normal. Sel inflamasi juga melepaskan *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) yang memicu terjadinya stres oksidatif (Gommeaux *et al.*, 2007).

Pada sel yang sedang berproliferasi, lesi oksidatif DNA akan menginduksi mutasi onkogen pada gen supresor tumor, seperti *p53*. Dengan demikian, ROS dan RNS berperan dalam onkogenesis dengan mempengaruhi proliferasi dan apoptosis sel. Pada IBD, yang merupakan proses inflamasi kronik, stres oksidatif dan lesi oksidatif DNA merupakan faktor penting dalam patogenesis terjadinya karsinoma kolorektal (Gommeaux *et al.*, 2007).

Proses inflamasi akan merangsang aktivasi sistem imun spesifik dan nonspesifik. Inflamasi pada kolon akan memicu sel dendritik dan makrofag untuk

mengekskresikan mediator proinflamasi seperti IFN- γ . Aktivitas IFN- γ diinduksi oleh CD4+ *T helper cell type 1 (Th1) lymphocytes*, CD8+ *cytotoxic lymphocytes*, dan *NK cells*. Sumber utama produksi IFN- γ adalah limfosit T, lalu APC profesional, serta aktivitas dari sel yang terinfeksi dan sekitarnya (Jonasch, 2001; Frucht, 2001).

Buah merah telah lama dipercaya sebagai salah satu alternatif pengobatan kanker yang semakin banyak digunakan oleh masyarakat (Irma dan Gilang, 2005). Buah merah dipercaya mengandung beberapa zat yang berfungsi meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan menangkal radikal bebas penyebab kanker dalam tubuh (Lee *et al.*, 2004; I Made Budi, 2005). Buah merah merupakan sumber antioksidan eksogen yang banyak mengandung β -karoten, *β -cryptoxantin*, dan α -tokoferol. Secara empiris, khasiat buah merah sudah banyak terbukti tapi penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* belum banyak dilakukan. Omega 3 yang terkandung dalam buah merah juga berfungsi memperbaiki jaringan sel yang rusak (I Made Budi, 2005; Machmud Yahya dan Bernard Wahyu Wiryanta, 2005; Ingrid Surono *et al.*, 2008).

Banyak penelitian yang dilakukan pada mencit untuk membuktikan khasiat buah merah sebagai antiinflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Ninik Mudjihartini, dkk dengan menggunakan tikus *Sprague* jantan yang diberi minyak buah merah menunjukkan bahwa dosis buah merah 0,231 mL/200gram BB menurunkan jumlah leukosit secara bermakna. 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 model kolitis dengan DSS terbukti dapat meningkatkan proliferasi limfosit dan menurunkan derajat keparahan kolitis yang dinilai melalui *clinical score* kolitis (Khie Khiong dkk., 2008). Selain itu, *β -cryptoxantin* dalam sari buah merah dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru-paru A549 secara *in vitro* (Ingrid Surono *et al.*, 2008).

Pada penelitian lain, terbukti bahwa khasiat dari buah merah dapat digunakan untuk menghambat karsinogenesis pada tikus yang diinduksi DMBA (7,12-dimetilbenz(a)antrasen) (Cheng *et al.*, 2003; Constantinou *et al.*, 2003).

Berdasarkan hal-hal tersebut, peneliti ingin mempelajari efek sari buah merah terhadap kadar IFN- γ pada mencit model kanker kolorektal.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah sari buah merah menurunkan kadar IFN- γ serum mencit model kanker kolorektal.

1.3 Maksud dan Tujuan

1.3.1 Maksud

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui khasiat sari buah merah sebagai terapi alternatif untuk kanker kolorektal.

1.3.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek pemberian sari buah merah terhadap penurunan kadar IFN- γ serum mencit model kanker kolorektal.

1.4 Manfaat Karya Tulis Ilmiah

Manfaat akademis penelitian ini adalah untuk memberikan tambahan informasi dan wawasan mengenai tanaman asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat *colitis-related cancer* (CRC).

Manfaat praktis penelitian ini adalah menunjukkan bahwa buah merah dapat mencegah terjadinya karsinogenesis yang berkembang dari proses inflamasi kronik, sehingga dapat dimanfaatkan oleh masyarakat untuk mengurangi kejadian kanker kolorektal.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Karsinogenesis dapat dibagi menjadi tiga tahap, yaitu inisiasi, promosi, dan progresi. Pada fase inisiasi, terjadi kerusakan DNA berupa mutasi akibat bahan kimia, karsinogen fisik, atau stres oksidatif yang menyebabkan aktivasi onkogen atau inaktivasi gen supresor tumor, seperti gen yang mengkode KRAS atau *p53*. Pada fase promosi, terjadi ekspansi klonal sel inisial, dimana terjadi peningkatan proliferasi dan penurunan kematian sel. 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).

Ulcerative colitis dan CD, memiliki patogenesis yang dipengaruhi oleh faktor genetik, lingkungan dan imun. Pada kanker kolorektal terjadi perubahan pada onkogen maupun pada gen supresor tumor. Kedua gen ini berefek pada pertumbuhan tumor dengan kemampuannya untuk mengatur proliferasi dan apoptosis sel (Kumar *et al.*, 2007).

Pemberian *dextran sulfate sodium* (DSS) dapat menginduksi terjadinya UC pada mencit melalui toksisitas langsung terhadap epitel kolon, peningkatan permeabilitas membran sel, dan aktivasi makrofag (Kim *et al.*, 2006; Tanaka, 2009). DSS juga menyebabkan kerusakan barier usus, sehingga makrofag di lamina propria dapat berinteraksi dengan bakteri usus. Pemakaian DSS jangka panjang dapat menimbulkan karsinoma kolon (Popivanova *et al.*, 2008). *Azoxymethane* (AOM) merupakan suatu prokarsinogen dengan struktur yang menyerupai cycasin, komponen natural kuat yang dapat menginduksi tumor di kolon dan rektum pada manusia dan hewan (Gommeaux *et al.*, 2007).

AOM menyebabkan terbentuknya O⁶-metilguanin di DNA, yang dapat mentransisikan basa G → A setelah replikasi. Hal ini menginduksi tumor pada

kolon bagian distal hewan pengerat, sehingga AOM sering digunakan sebagai protokol kanker kolorektal untuk mencari dan skrining pengobatan yang potensial. DSS merupakan agen kimia toksik yang secara luas digunakan untuk model eksperimental IBD (Gommeaux *et al.*, 2007).

Interferon merupakan mediator yang teraktivasi pada saat terjadi infeksi. Terdapat 2 kelompok interferon yaitu IFN I (IFN- α dan β) dan IFN II (IFN- γ). IFN I memiliki fungsi utama sebagai imunomodulator dan agen antiviral, sedangkan IFN II berperan dalam mengatur respon imun tubuh, dengan meningkatkan ekspresi molekul MHC-II pada *antigen presenting cell* (APC) yang akan meningkatkan presentasi antigen pada sel T *helper* dan mengaktifkan kemampuan makrofag untuk fagositosis dan membunuh sel lain yang terinfeksi (Hunt, 2006).

Pada IBD yang merupakan proses inflamasi kronik, terjadi akumulasi stres oksidatif dan kerusakan sel oksidatif yang meningkatkan kadar ROS dan RNS sehingga menginduksi terjadinya onkogenesis dengan mengubah proliferasi sel dan kematian sel (Gommeaux *et al.*, 2007). ROS dan RNS yang berlebihan dapat memicu perubahan proses biologi dalam sel, sehingga mengganggu fungsi homeostasis normal, dan menimbulkan ketidakstabilan genom yang mengakibatkan karsinogenesis (Hussain and Harris, 2007).

Buah merah merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dijumpai di Papua dan sedang dikembangkan sebagai obat alternatif untuk berbagai macam pengobatan, termasuk kanker. Kandungan buah merah antara lain beta-karoten, alfa-tokoferol, vitamin C, vitamin B1, dan asam lemak esensial seperti asam oleat, asam linoleat, dan asam dekanat. Karotenoid dan tokoferol merupakan senyawa alami yang berefek sangat baik sebagai antioksidan dan berfungsi mencegah pembiakan sel-sel kanker (Bernard T, 2005). Kadar anti oksidan yang tinggi dalam buah merah terutama β -karoten dan α -tokoferol, diharapkan dapat menghambat reaksi inflamasi sehingga dapat menurunkan kadar IFN- γ pada model kanker kolorektal yang diberi sari buah merah.

Mekanisme buah merah dalam menghambat proses inflamasi yaitu β -karoten dan tokoferol berperan sebagai antioksidan dan meningkatkan imunitas intestinal.

Vitamin A dalam bentuk asam retinoat mengaktifkan sel T yang dapat menginduksi ekspresi integrin $\alpha_4\beta_7$ dan reseptor kemokin CCR9 yang akan berinteraksi dengan molekul pada usus halus dan merekrut sel T ke daerah tersebut (Lindbom and Agace, 2004).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, diketahui bahwa pemberian sari buah merah dengan dosis 0,2 mL pada mencit model kolitis dapat meningkatkan jumlah limfosit pada mencit terutama proliferasi sel leukosit non T, tapi pada dosis yang tidak sesuai buah merah dapat menurunkan jumlah limfosit. Maka dari itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah buah merah yang memiliki kadar antioksidan tinggi dapat menghambat proses inflamasi–karsinogenik pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal dengan AOM dan DSS dengan parameter IFN- γ .

1.5.2 Hipotesis

Sari buah merah menurunkan kadar IFN- γ serum pada mencit model kanker kolorektal.

1.6 Metodologi

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan, bersifat komparatif dengan rancangan acak lengkap (RAL). Parameter yang diukur adalah kadar IFN- γ serum mencit dengan menggunakan metode *ELISA*.

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Analisis Varian (ANOVA) satu arah dengan $\alpha = 0,05$ dan dilanjutkan uji beda rata – rata Tukey HSD. Tingkat kemaknaan dinilai berdasarkan nilai $p \leq 0,05$.