

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker kolon merupakan kanker terbanyak ketiga di dunia. Berdasarkan data Globocan di tahun 2012 diperkirakan ada 2.419.677 kasus baru (17,2%) dan 688.932 (8,4%) kematian akibat kanker kolon. Angka insidensi kanker kolon terus meningkat seiring dengan penambahan penduduk baik di negara berkembang maupun negara maju. Di Indonesia kanker kolon termasuk sepuluh besar jenis kanker yang banyak diderita yaitu pada urutan keenam besar. Kejadian kanker kolon di Indonesia semakin meningkat dengan jumlah kasus 1,8 per 100.000 penduduk. Data rekam medis RS Imanuel, Bandung pada tahun 2005-2007 penderita kanker kolon wanita sebanyak 57,1% dan pria 42,9%. Penderita kanker kolon berusia 60-70 tahun sekitar 23,8% (Winarno, *et al.*, 2009). Kejadian kanker kolon di Indonesia lebih sering terjadi tanpa pengaruh riwayat keluarga. Perubahan gaya hidup sehat penduduk Indonesia juga menjadi penyebab terjadinya kanker kolon (Sjamsuhidajat, 2006), sehingga perlu adanya upaya pengobatan dan pencegahan yang tepat untuk mengurangi angka kematian.

Kemoterapi adalah obat antikanker yang digunakan dengan tujuan untuk menghentikan pertumbuhan, mencegah penyebaran sel kanker (Katzung, 2010). Mekanisme kerja obat kemoterapi tidak bersifat selektif, dimana selain sel kanker yang terbunuh, sel normal yang bersifat aktif juga ikut terkena pengaruhnya. Beberapa efek samping yang tidak diinginkan akan timbul selama kemoterapi. Selain itu adanya kemoresisten mengakibatkan berkurangnya efikasi obat

kemoterapi. Penanganan kanker kolon dengan agen kemoterapi konvensional masih menjadi pilihan dalam pengobatan kanker. 5-Flourourasil (5-FU) merupakan salah satu agen kemoterapi yang digunakan pada kanker kolon (Meyerhardt and Mayer, 2005). 5-Flourourasil adalah suatu *false substrate* bagi timidilat sintetase (TS), yaitu enzim pensintesis deoksitimidin 5 monofosfat (dTMP) sebagai prekursor yang diperlukan dalam sintesis DNA (Giovannetti *et al.*, 2007). Hal ini akan mengakibatkan induksi apoptosis karena penghambatan sintesis DNA yang disebabkan sel kekurangan dTMP. Akan tetapi adanya efek samping neurotropenia, diare, *hand foot syndrome*, stomatitis dan resistensi menjadi kelemahan 5-FU. Efektivitasnya sebagai agen kemoterapi baru mencapai 15% sehingga diperlukan pengembangan agen kokemoterapi untuk meningkatkan efektivitas terapi dengan 5-FU (Meyerhardt and Mayer, 2005).

Kokemoterapi adalah strategi yang dapat dikembangkan dengan mengkombinasikan 5-flourourasil sebagai agen kemoterapi dengan suatu bahan alam yang memiliki aktivitas sebagai agen kemopreventif yaitu rimpang temu kunci. Salah satu kandungan utama yang berefek sitotoksik adalah panduratin A (Sohn, *et al.*, 2005). Kandungan zat aktif yang menunjukkan antimutagenik dari ekstrak metanolikrimpang temu kunci adalah kalkon, cardamonin, pinocembrin, pinostrobin, 4-hidroksipanduratin, dan panduratin A (Trakontivakorn, *et al.*, 2001). Senyawa panduratin A merupakan derivat kalkon yang menunjukkan aktivitas penurunan level protein *Cyclin* D1 dan *Cyclin* E. Penggunaan panduratin A juga menurunkan regulasi CDK2, CDK4, dan CDK6. Penurunan kompleks cyclin-CDK dapat menghambat fosforilasi pRb sehingga E2F tidak aktif sebagai

faktor transkripsi (Yun, *et al.*, 2006). Temu kunci merupakan tanaman yang berkhasiat sebagai anti kanker. Penelitian yang menyebutkan bahwa ekstrak etanolik temu kunci berpotensi sebagai agen kemopreventif sel kanker HeLa dengan IC_{50} 87 $\mu\text{g/mL}$ dan sel kanker kolon WiDr dengan IC_{50} 76 $\mu\text{g/mL}$ (Handoko *et al.*, 2011),

Sel WiDr adalah salah satu model sel kanker kolon yang termutasi pada *p53*, namun adanya *p21* yang normal memungkinkan terjadinya penghentian daur sel (Liu *et al.*, 2006). Transfeksi WiDr dengan *p53* normal pun tidak menyebabkan peningkatan sensitivitasnya terhadap 5-FU (Liu *et al.*, 2006), sehingga WiDr merupakan sel yang sesuai untuk digunakan sebagai model uji dalam rangka pengembangan agen kokemoterapi kanker kolon dengan 5-FU. Berdasarkan uraian tersebut peneliti ingin mengetahui efek ekstrak etanolik rimpang temu kunci terhadap aktivitas sitotoksik 5-flourourasil pada sel kanker kolon WiDr, dengan melihat bahwa ekstrak rimpang temu kunci memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai agen ko-kemoterapi. 5-flourourasil pada pengobatan kanker kolon. Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian mengenai aktivitas antikanker rimpang temu kunci dalam meningkatkan sensitivitas 5-flourouasil pada sel kanker kolon WiDr. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan bagi penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan strategi kokemoterapi dari rimpang temu kunci yang efektif dan efisien untuk mengatasi kanker kolon.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang ada maka rumusan masalah penelitian ini yaitu:

1. Apakah ko-kemoterapi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan 5-flourourasil mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis terhadap sel kanker kolon dilihat dari nilai *Combination Index* (CI) yang diperoleh?.
2. Berapakah konsentrasi yang bisa menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis pada kombinasi etanolik rimpang temu kunci dan 5-flourourasil pada sel kanker kolon WiDr?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Membuktikan efek sitotoksik yang sinergis ko-kemoterapi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan 5-flourourasil pada sel kanker kolon WiDr berdasarkan nilai CI (*Combination Index*) yang diperoleh.
2. Menentukan konsentrasi terbaik yang mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis pada kombinasi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan 5-flourourasil terhadap sel kanker kolon WiDr.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, yakni :

1. Memberikan informasi dasar tentang sinergisme kombinasi EERTK dan 5-flourourasil untuk dapat dikembangkan pada penelitian selanjutnya.
2. Menambah informasi ilmiah tentang hasil penelitian sinergisme kombinasi EERTK dan 5-flourourasil untuk pengobatan kanker kolon.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kanker Kolon

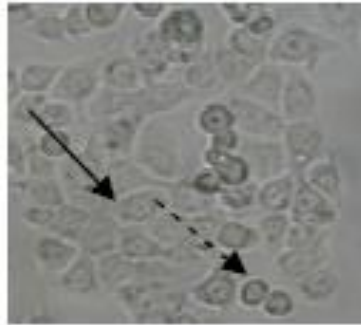
Kanker kolon adalah suatu pertumbuhan tumor yang bersifat ganas dan merusak sel DNA dan jaringan sehat di sekitar kolon dan rektum. Sebagaimana kanker pada umumnya, kanker kolon juga menjalani tahapan karsinogenesis pada proses pembentukannya. Keseluruhan proses karsinogenesis tidak hanya dihasilkan dari satu perubahan genetik, namun merupakan akumulasi dari seluruh mutasi genetik pada tiap tahapan (Janne *and* Mayer, 2000). Gejala dari kanker kolon meliputi nyeri perut, pendarahan rektum, perubahan kebiasaan pada pola buang air besar, dan penurunan berat badan. Gejala lain berupa mual dan muntah, malaise, anoreksia, dan ditensi abdomen. Munculnya gejala bergantung pada lokasi kanker, ukuran kanker dan metastasis (Cappell, 2005).

2. Sel WiDr

Sel WiDr (gambar 1) merupakan salah satu jenis sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon seorang wanita berusia 78 tahun. Sel ini

merupakan turunan dari sel kanker kolon yang lain yakni sel HT-29 (Chen, *et al.*, 1987), Sel WiDr memproduksi sel karsinoembrionik dan memerlukan rentang waktu 15 jam untuk dapat menyelesaikan satu daur sel. Palozza, *et al.*, (2005) menjelaskan bahwa salah satu karakteristik dari sel WiDr adalah ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) yang tinggi yang memacu proliferasi sel itu sendiri. Pada sel WiDr, terjadi mutasi *p53* GA pada posisi 273 sehingga terjadi perubahan residu arginin menjadi histidin (Noguchi, *et al.*, 1979). Namun *p21* pada sel WiDr yang masih normal memungkinkan terjadinya penghentian daur sel (Liu, *et al.*, 2006).

Sel WiDr memiliki sensitifitas yang rendah terhadap perlakuan dengan agen kemoterapi golongan antimetabolit seperti 5-flourourasil. Tranfeksi WiDr dengan *p53* normal pun tidak menyebabkan peningkatan sensitivitasnya terhadap 5-FU (Giovannetti, *et al.*, 2007). Resistensi sel WiDr terhadap 5-FU salah satunya diperantarai dengan terjadinya peningkatan ekspresi enzim timidilat sintetase yang merupakan target penghambatan utama dari 5-FU (Sigmond, *et al.*, 2003). Sel WiDr mudah untuk dikulturkan, memiliki *doubling-time* yang cukup singkat yakni 15 jam, memiliki efisiensi *plating* yang tinggi yaitu 51% dan memiliki mekanisme resistensi terhadap agen kemoterapi yang cukup tinggi (Palozza dkk., 2005).



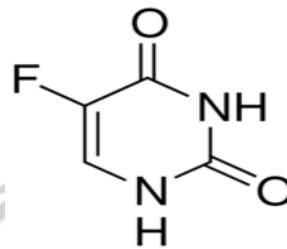
Gambar 1. Morfologi Sel Kanker Kolon WiDr (Handoko, *et al.*, 2011)

3. 5-Fluorourasil (5-FU)

Senyawa 5-Fluorourasil (gambar 2) merupakan agen kemoterapi yang digunakan untuk terapi kanker kolon (Meyerhardt *and* Mayer, 2005). Senyawa 5-FU adalah analog pirimidin yang bekerja secara antagonis dengan deoksiuridin monofosfat (dUMP) terhadap aktivitas enzim timidilat sintetase (TS). Begitu memasuki sel, 5-FU akan dikonversikan menjadi 5-fluorouridin (5-FuDR) oleh timidin fosforilase yang selanjutnya akan difosforilasi menjadi 5-fluoro-deoksiuridin monofosfat (5-FdUMP) oleh timidin kinase. Senyawa 5-FdUMP yang menyerupai dUMP inilah yang akan berkompetisi sebagai *false substrate* bagi TS sehingga tidak terbentuk deoksitimidin monofosfat (dTMP) yang merupakan pembentuk salah satu *building block* DNA (Shah *and* Schwartz, 2001). Hal ini akan mengakibatkan induksi apoptosis karena penghambatan sintesis DNA yang disebabkan sel kekurangan dTMP. Peningkatan ekspresi TS pada sel kanker merupakan respon sel yang dapat mengakibatkan resistensi terhadap 5-FU (Giovanetti, *et al.*, 2007).

Efek samping 5-FU yang ditemukan pada pasien antara lain neutropenia, stomatitis, diare, dan *hand-foot syndrome*. Masing-masing efek ini terkait

dengan metode pemberian yang diterapkan pada pasien (Meyerhardt *and* Mayer, 2005). Dibandingkan dengan agen kemoterapi yang lain, 5-FU memiliki selektivitas yang tinggi pada aktivitas TS dan efek samping yang ditimbulkan relatif lebih ringan. Struktur kimia 5-flourourasil dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur kimia 5-Fluorourasil (Ikawati, 2008)

4. Tanaman Rimpang Temu Kunci

Secara umum, masyarakat Indonesia menggunakan rimpang temu kunci (gambar 3) sebagai bumbu masak, sebagai peluruh dahak, untuk mengatasi flatulensi, penambah nafsu makan, untuk menyembuhkan sariawan, dan pemacu keluarnya air susu ibu (ASI) (Rukmana, 2008).

Klasifikasi tumbuhan rimpang temu kunci adalah sebagai berikut :

Divisi : Magnoliophyta

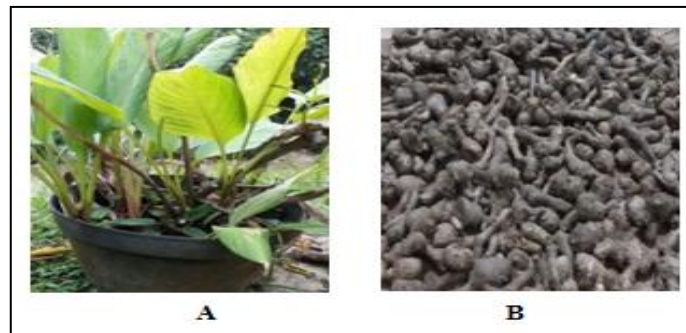
Kelas : Liliopsida

Ordo : Zingiberales

Familia : Zingiberaceae

Genus : *Boesenbergia*

Species : *Boesenbergia pandurata* (Kardono *et.al.*, 2003)



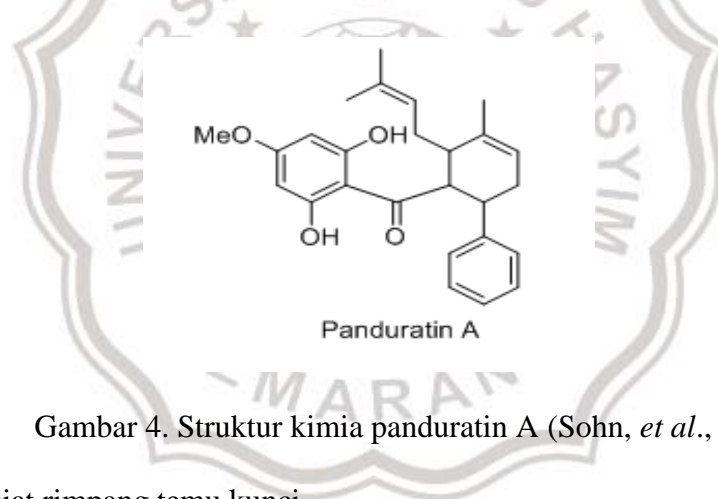
Gambar 3. Tumbuhan temu kunci (a) dan rimpang temu kunci (b) (dokumentasi pribadi)

a. Morfologi

Tanaman temu kunci termasuk tanaman terna dengan ketinggian mencapai 13,5 cm. Daun tanaman berwarna hijau, helaian daun tegak, berbentuk lancet dengan ujung daun lancip, berukuran panjang 21,4 cm dan lebar 10,1 cm. Pelepah daun berwarna merah. Jumlah daun sekitar 5 helaian setiap pohon. Kelopak bunga berwarna ungu dengan ujung bagian atas berwarna merah. Bunga muncul dari ketiak daun, pada bagian atas berwarna ungu, sedangkan pada bagian bawah berwarna putih. Rimpang berbentuk bulat dikelilingi oleh anak-anak rimpang yang berbentuk agak memanjang dengan ujung gemuk. Kulit rimpang berwarna putih kotor, sedangkan daging berwarna kuning muda, berasa enak dan berbau harum. Kedalaman rimpang mencapai 4,5 cm dan panjang akar 19,8 cm. Ketebalan rimpang muda adalah 0,76 cm, ketebalan rimpang tua 1,73 cm. Jumlah rimpang muda setiap rumpun sekitar dua belas, sedangkan jumlah rimpang tua sekitar sembilan (Plantus, 2008).

b. Kandungan kimia.

Rimpang temu kunci mengandung panduratin A yang merupakan senyawa fenolik (Sohn, *et al.*, 2005; Kirana, *et al.*, 2006; Yun, *et al.*, 2006), kalkon, pinosembrin, pinostrobin, 4-hidroksipanduratin (Trakoontivakorn, *et al.*, 2001). Panduratin A (gambar 4) merupakan derivat kalkon yang mempunyai efek biologis, seperti antiinflamasi, analgetik, antikanker dan antioksidan (Yun, *et al.*, 2006 dan Geonadi, *et al.*, 2009). Aktivitas antiradikal suatu ekstrak dapat dipengaruhi oleh kadar fenolik totalnya (Utami, *et al.*, 2005). Struktur kimia panduratin A dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Struktur kimia panduratin A (Sohn, *et al.*, 2005)

c. Khasiat rimpang temu kunci

Rimpang temu kunci secara umum berkhasiat dalam mengobati penyakit rematik, radang lambung, radang selaput lendir, peluruh air seni, malaria, sariawan, batuk kering, diare, cacingan, perut kembung, gangguan pada usus besar, penyakit kulit dan tonikum (Rukmana, 2008), selain sebagai analgetik temu kunci juga berkhasiat untuk mengobati radang indung telur (Muhlisah, 1999). Selain dimanfaatkan sebagai bumbu masak,

rimpang temu kunci juga digunakan sebagai obat disentri, kolik, diare, antibakteri, antitumor, antiinflamasi, antikembang serta menjaga kesehatan tubuh (Tewtrakul, *et.al*, 2009). Sohn *et al.*, (2005) melaporkan bahwa rimpang temu kunci dapat digunakan sebagai obat kanker. Trankoontivakorn *et al.*, (2001) menyatakan bahwa ekstrak metanolik dari rimpang temu kunci mempunyai efek antimutagenik pada Trp-P-1 pada uji Ames. Enam kandungan zat aktif yang menunjukkan antimutagenik ini adalah khalkon, cardamonin, pinocembrin, pinostrobin, 4-hidroksipanduratin, dan panduratin A. IC50 masing-masing zat tersebut adalah 5,2 mM, 5,9 mM, 6,9 mM, 5,3 mM, 12,7 mM, dan 12,1 mM.

F. Landasan Teori

5-flourourasil (5-FU) merupakan salah satu agen kemoterapi yang digunakan pada kanker kolon (Meyerhardt *and* Mayer, 2005). 5-Flourourasil adalah suatu *false substrate* bagi timidilat sintetase (TS), yaitu enzim pensintesis deoksitimidin 5 monofosfat (dTMP) sebagai prekursor yang diperlukan dalam sintesis DNA. Hal ini akan mengakibatkan induksi apoptosis karena penghambatan sintesis DNA yang disebabkan sel kekurangan dTMP (Shah *and* Schwartz, 2001).

Rimpang temu kunci merupakan tumbuhan dari keluarga Zingiberaceae yang diketahui memiliki kandungan senyawa aktif panduratin A. Sohn, *et al.*, (2005) menyatakan bahwa panduratin A menghambat kuat pertumbuhan sel kanker HepG2 yang diinduksi dengan tert-Butylhydroperoxide (t-BHP). Yun, *et al.*, (2006) telah membuktikan bahwa panduratin A berpotensi sebagai antikanker

dengan mekanisme aksi menginduksi apoptosis pada sel kanker kolon HT-29. Panduratin A juga dapat memacu apoptosis sel melalui aktivasi caspase. Enzim caspase berperan penting dalam mekanisme apoptosis. Bukti-bukti menunjukkan bahwa TRAIL dan FAS signaling pathway berperan dalam kemoterapi-induksi apoptosis, dengan aktivasi inisiator caspase 8 atau caspase 3, 6 dan 7. Induksi apoptosis dan atau penghambatan pembelahan sel berhubungan erat dengan aktivasi intraselular signaling pathway untuk menghentikan siklus sel pada fase G1, S, atau G2/M. Perlakuan dengan panduratin A pada sel CaP, menunjukkan penurunan level protein cyclin B1, cdc25C and cdc2 (Yun *et al.*, 2006).

. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa salah satu efek dari penghambatan aktivitas cyclin B1-cdc2 oleh panduratin A mengakibatkan terhentinya transisi fase G2/M. Dengan penghambatan aktivitas siklus sel pada berbagai fase, maka panduratin A memiliki sifat antiproliferatif yang dapat menekan pertumbuhan sel kanker (Lodish *et al.*, 2000). Handoko, *et al.*, (2007) menyatakan bahwa rimpang temu kunci sebagai agen kemopreventif sel kanker Hela dan sel kanker WiDr. Berdasarkan kemampuan panduratin A yang terdapat dalam rimpang temu kunci tersebut memungkinkan kombinasinya dengan agen kemoterapi seperti 5-flourourasil untuk memberikan efek sitotoksik yang sinergis terhadap sel kanker kolon WiDr.

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas, dapat ditarik hipotesis bahwa ko-kemoterapi EERTK dan 5-flourourasil mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis terhadap sel kanker kolon WiDr.

