

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Karsinoma epidermoid**

Karsinoma epidermoid adalah suatu proliferasi ganas dari keratinosit epidermis yang merupakan tipe sel epidermis yang paling banyak dan merupakan salah satu dari kanker kulit yang sering dijumpai setelah basalioma. Faktor predisposisi karsinoma epidermoid antara lain radiasi sinar ultra violet, bahan karsinogen, arsenik dan lain – lain.<sup>1,2</sup>

##### **2.1.1. EPIDEMIOLOGI**

Karsinoma epidermoid di Amerika Serikat merupakan tumor ganas kulit non melanoma ke-2 terbanyak setelah karsinoma sel basal dan merupakan 20 % dari keganasan kulit. Kekambuhan karsinoma epidermoid masih tinggi yaitu 2 % dan 8,9 % paska eksisi luas dengan batas eksisi pada jarak 2 cm dari tepi tumor, paska radioterapi 7 % - 50 % dan 20 % paska kuretase dan elektrodeseksi.<sup>2</sup>

##### **2.1.2. ETIOLOGI**

Seperti pada umumnya kanker yang lain, penyebab kanker kulit ini juga belum diketahui secara pasti. Terdapat banyak faktor yang dapat menyebabkan pertumbuhan karsinoma epidermoid, yaitu faktor paparan sinar matahari, arsen, hidrokarbon, suhu, radiasi kronis, parut, dan virus.<sup>8</sup>

### 2.1.3. GAMBARAN KLINIS

Karsinoma epidermoid pada umumnya sering terjadi pada usia 40 – 50 tahun dengan lokasi yang tersering adalah pada daerah yang banyak terpapar sinar matahari seperti wajah, telinga, bibir bawah, punggung, tangan dan tungkai bawah.<sup>2</sup>

Secara klinis ada 2 bentuk karsinoma epidermoid :

#### 1. Karsinoma epidermoid in situ

Terbatas pada epidermis dan terjadi pada berbagai lesi kulit yang telah ada sebelumnya seperti solar keratosis, kronis radiasi keratosis, hidrokarbon keratosis, arsenikal keratosis, kornu kutanea, penyakit Bowen dan eritroplasia Queyrat. Karsinoma epidermoid insitu ini dapat menetap di epidermis dalam jangka waktu lama dan tak dapat diprediksi, dapat menembus lapisan basal sampai ke dermis dan selanjutnya bermetastase melalui saluran getah bening regional.

#### 2. Karsinoma epidermoid invasif

Karsinoma epidermoid invasif dapat berkembang dari karsinoma epidermoid insitu dan dapat juga dari kulit normal, walaupun jarang. Karsinoma epidermoid yang dini baik yang muncul pada karsinoma insitu, lesi pramaligna atau kulit yang normal, biasanya adalah berupa nodul kecil dengan batas yang tidak jelas, berwarna sama dengan warna kulit atau agak sedikit eritema. Permukaannya mula - mula

lembut kemudian berkembang menjadi verukosa atau papilamatososa. Ulserasi biasanya timbul di dekat pusat dari tumor, dapat terjadi cepat atau lambat, sering sebelum tumor berdiameter 1 – 2 cm. Permukaan tumor mungkin granular dan mudah berdarah, sedangkan pinggir ulkus biasanya meninggi dan mengeras, dapat dijumpai adanya krusta.

#### 2.1.4. Penanganan

Prinsip penanganan karsinoma epidermoid adalah sebagai berikut :

##### 1. Pembedahan<sup>5</sup>

Pembedahan merupakan tindakan pilihan utama dan bisa dipergunakan baik terhadap lesi yang kecil maupun yang besar. Pembedahan harus dilakukan dengan pembiusan total karena pembiusan lokal dapat terjadi penyeberangan dari sel-sel tumor mengikuti ujung jarum suntik yang dipergunakan. Pembedahan yang dilakukan sebagai terapi dari karsinoma epidermoid adalah eksisi luas dengan batas irisan dari tepi tumor sebesar 2 cm atau lebih dalam 2 cm. Ada beberapa ahli yang mengatakan bila diameter terpanjang tumor tersebut < 2 cm maka irisan cukup 1 cm dari tepi tumor, sedangkan bila diameter terpanjang dari tumor tersebut > 2 cm maka dianjurkan untuk melakukan irisan 2 cm atau lebih. Penanganan terhadap luka pasca eksisi dapat dilakukan penutupan primer, hanya dianjurkan jangan melakukan pembebasan jaringan subkutis bila luka lebar tapi disarankan untuk melakukan tandur kulit. Hal ini untuk mengurangi terjadinya skar ataupun sikatrik

yang dapat merupakan faktor predisposisi untuk terjadinya kekambuhan.

Keuntungan tindakan pembedahan antara lain :

- Dapat dilakukan pada tumor yang kecil maupun besar
- Dapat dilakukan pada kasus yang residif
- Jaringan bawah kulit yang terkena dapat sekaligus dieksisi

Kerugian dari pembedahan adalah :

- Tidak dapat dilakukan pada penderita dengan kontraindikasi operasi (gangguan fungsi ginjal, hepar dan jantung).
- Lokasi tumor yang bila dilakukan eksisi dapat menimbulkan problem baru (seperti palpebra) dan jarak eksisi dari tepi tumor yang tidak dapat optimal.

## 2. Radioterapi<sup>5</sup>

Radioterapi pada penderita karsinoma epidermoid dianjurkan diberikan pada penderita yang lesi tumornya terletak pada daerah yang sulit (sekitar mata, bibir dan hidung) bila dilakukan pembedahan ataupun pada penderita yang sudah dilakukan eksisi dan tidak dapat melakukan irisan pada jarak 2 cm dari tumor dan penderita sudah tua. Dosis total yang dianjurkan adalah 4000 – 4500 rad, yang diberikan 300 rad/hari berturut – turut sampai 5 hari atau minggu dan lama

pemberian adalah 2 – 3 minggu. Kesembuhan karsinoma epidermoid setelah radioterapi jika ukuran tumor < 1 cm, 1 – 5 cm 76 %, dan jika > 5 cm 56 %.

### 3. Sitostatika<sup>8,9</sup>

Modalitas terapi ini dianjurkan sebagai suatu terapi tambahan dan terutama untuk kasus dengan adanya metastase jauh, juga pada penderita dengan lesi pada tempat sulit untuk melakukan eksisi 2 cm dari tepi tumor. Cisplatin merupakan regimen kemoterapi yang direkomendasikan penggunaannya untuk non melanoma skuamous sel karsinoma. Kombinasi cisplatin dengan paclitaxel, doxorubicin, bleomycin, atau 5- fluorouracil (5-FU) secara luas telah digunakan sebagai terapi untuk karsinoma epidermoid dengan lesi yang luas dan bermetastasis.

Cisplatin bekerja dengan mekanisme menghambat *crosslink* dari DNA, dan secara aktif mengganggu siklus sel. Pada kasus karsinoma epidermoid dapat diberikan dengan dosis 50 – 100 mg/m<sup>2</sup> perhari atau 15 – 20 mg/m<sup>2</sup> perhari selama 5 hari, dan diulang dengan interval waktu setiap 3-4 minggu. Paclitaxel menunjukkan aktivitas yang impresif pada kanker ovarium stadium lanjut, payudara, paru, esophagus , kandung kemih dan kanker kepala leher. Paclitaxel dikembangkan sebagai terapi lini pertama dan kombinasi dengan cisplatin pada karsinoma epidermoid. Paclitaxel berkerja dengan

menghambat proliferasi sel dengan menginduksi blok mitosis pada metafase / anafase, sehingga membentuk lempeng metafase yang inkomplit pada kromosom dan pengaturan spindel microtubule menjadi abnormal. Paclitaxel umumnya diberikan dengan dosis 135-175 mg/m<sup>2</sup> lebih dari 24 jam setiap tiga minggu. Kombinasi paclitaxel dan cisplatin terutama pada karsinoma epidermoid dan karsinoma sel skuamous kepala leher, sebanding dengan kombinasi docetaxel dan cisplatin, dimana kedua kombinasi tersebut memberikan respon parsial 50 %, dan hanya sedikit yang memberikan respon komplet. Berreta menganjurkan pemberian Adriamycine dengan dosis 50 mg/m<sup>2</sup> lpb dan Cisplatinum dengan dosis 75 mg/m<sup>2</sup> lpb (CP) dengan pemberian setiap 3 minggu sekali atau siklofosfamid 500 mg/m<sup>2</sup> hari kedua, Vinkristin 1,5 mg/m<sup>2</sup> lpb hari ke-1, 8, dan 15, Adriamicin 50 mg/m<sup>2</sup> hari kedua, dan Dakarbasin 250 mg/m<sup>2</sup> hari ke-1 sampai ke-5 (CYDAVIC) serta diulang tiap 3 minggu. Pada stadium lanjut dan tidak dapat dilakukan operasi maka modalitas terapi yang lebih baik adalah kombinasi antara sitostatika Karboplatin (turunan Cisplatin) 50 mg/m<sup>2</sup> pada hari ke-1 – 4, minggu ke 1,2,5, dan 6 (hari ke 1 dan 2) diikuti radioterapi mulai minggu ke 3, 6 7, 2 Gy dengan 2,1 Gy perhari.

Tindak lanjut karsinoma epidermoid post operasi yaitu 3 bulan pada 2 tahun pertama, 6 bulan 3 tahun kemudian. Selanjutnya tiap tahun. Ada

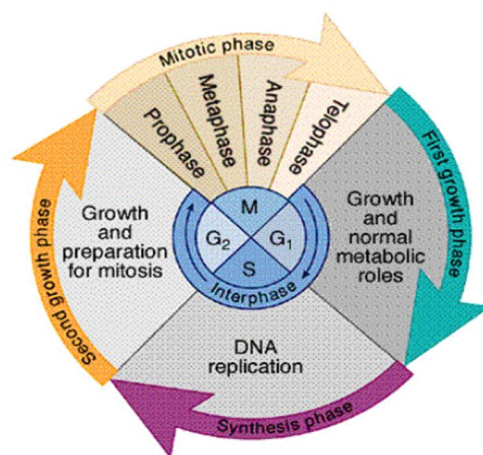
juga yang berpendapat kontrol tiap 3 bulan pada 3 tahun pertama, tiap 6 bulan pada tahun ke-4 dan 5, selanjutnya kontrol tiap tahun.<sup>5</sup>

## 2.2. Siklus Sel Eukariot

Siklus sel terdiri dari 2 fase yaitu fase interfase (fase G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>) dan fase mitotik (M-phase, yaitu Profase, Metafase, Anafase, Telofase).

### 2.2.1. Interfase

Perkembangan proliferasi sel melalui satu seri mekanisme pemeriksaan dan fase yang tetap, proses ini disebut dengan siklus sel. Di dalam siklus sel terjadi secara berurutan, terdiri dari : *Presynthetic growth phase 1 (G<sub>1</sub>); DNA synthetic phase (S); premitotic growth phase 2 (G<sub>2</sub>); mitotic phase (M)*. Sel dalam keadaan diam (quiescent) berada dalam keadaan fisiologis (G<sub>0</sub>).<sup>20, 21</sup>



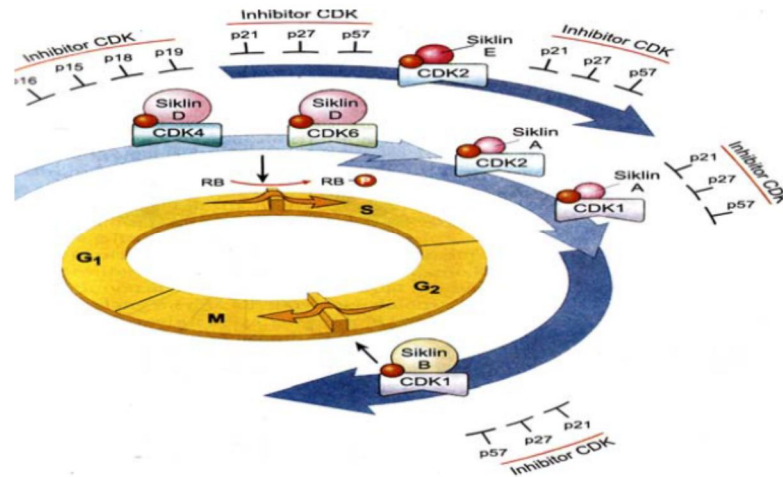
Gambar 1. Fase pada siklus sel

Sel-sel yang labil membelah terus-menerus, secara konstan mengikuti siklus sel dari satu mitosis ke mitosis berikutnya. Sel-sel yang secara permanen tidak lagi membelah, tidak lagi mengikuti siklus sel dan menuju kematian sel tanpa disertai pembelahan lebih lanjut. Sel-sel stabil yang berada dalam keadaan tenang di fase G<sub>0</sub> tidak mengikuti siklus sel dan juga tidak menuju kematian dan sewaktu-waktu dapat diinduksi untuk memasuki siklus sel jika ada stimulus yang sesuai. Mulai dari berkembangnya sel melalui siklus sel yang dikontrol melalui perubahan kadar dan aktifitas satu famili protein yang disebut Cyclin. Kadar berbagai cyclin meningkat pada tahap tertentu di dalam siklus sel, setelah itu kadarnya dengan cepat menurun saat siklus sel melanjut ke fase berikutnya. Cyclin menyelesaikan tugas regulasinya dengan menggabungkan diri dengan protein yang disebut cyclin dependent kinase (CDKs). Kombinasi yang berbeda antara cyclin dan CDKs berhubungan dengan kombinasi apa yang diperlukan dalam fase tertentu dalam siklus sel. Ikatan cyclin dan CDK memperkuat kekuatannya dengan memfosforilasi kelompok tertentu dari substrat protein (kinase phosphorylase protein; protein yang melawan fungsi regulasi: phosphatase dephosphorylase protein). Tergantung pada protein tersebut, fosforilasi dapat memacu perubahan yang sesuai yang berpotensi untuk :

1. Mengaktivasi atau menginaktivasi aktivitas suatu enzim
2. Menginduksi atau membaurkan diri dengan interaksi protein – protein
3. Menginduksi atau menghambat pengikatan protein ke DNA



#### 4. Menginduksi atau mencegah katabolisme suatu protein



Gambar 2. Kontrol terhadap perkembangan sel. Cyclin – CDK

Contoh spesifik berkenaan dengan CDK1, dimana ia mengontrol transisi kritis dari G<sub>2</sub> → M. Begitu sel berpindah ke fase G<sub>2</sub>, cyclin B dibentuk, dan ia berikatan dengan CDK1. Kompleks cyclin B – CDK1 diaktivasi dengan fosforilasi. Kinase yang aktif tersebut memfosforilasi sejumlah protein yang berperan pada mitosis, termasuk yang berperan pada replikasi DNA, depolimerisasi inti lamina, dan pembentuk spindel mitotik. Setelah sel membelah, cyclin B berdegradasi melalui jalur ubiquitin-proteosomal sampai muncul stimulus pertumbuhan berikutnya dan membentuk cyclin yang baru lagi, sel sementara tidak mengalami mitosis.<sup>21</sup>

Untuk lebih membantu sintesis dan degradasi cyclin, kompleks cyclin-CDK juga diatur oleh ikatan CDK inhibitor. Hal ini khususnya sangat penting dalam mengatur *checkpoint* siklus sel (G<sub>1</sub> → S dan G<sub>2</sub> → M), titik dimana sel –

sel mengambil stok apakah DNANYa cukup bereplikasi dan semua kesalahan telah direpair sebelum berkembang ke tahap berikutnya. Kegagalan monitor replikasi DNA secara sangat teliti menyebabkan akumulasi mutasi dan memungkinkan transformasi ke arah malignansi. Sebagai contoh saat DNA rusak (misalnya oleh radiasi ultra violet), tumor supresor gen protein TP53 (dahulu disebut p53; suatu protein yang telah difosforilasi yang berada dalam molekul 53 KD) telah mengalami stabilisasi dan menginduksi transkripsi CDKN1A (dulunya disebut p21), suatu CDK inhibitor. CDKN1A menyebabkan sel beristirahat pada fase G1 atau G2 sampai DNA bisa direpair, pada saat tersebut kadar TP53 menurun, CDKN1A berkurang, dan sel bisa diproses melalui check point tersebut. Jika kerusakan DNA terlalu berlebihan, TP53 akan memulai suatu urutan peristiwa agar meyakinkan sel untuk bersedia bunuh diri (apoptosis).<sup>22,23</sup>

Pada fase G1 ke S, sel mempersiapkan diri untuk mensintesa DNA. Terdapat suatu *restriction point* (R), dimana bila sel telah melampaui titik ini, sel tidak memerlukan *Mitogenic Growth Factor* lagi untuk memasuki fase S. Penurunan aktivasi Cyclin – CDK pada fase ini akan memfosforilasi retinoblastoma (pRb) protein. Fosforilasi pRb pada atau dekat dengan R point, akan menginaktivasi pRb sehingga akan dilepaskan *transcription faktor E2F* yang menyebabkan sel akan mentranskripsi gen untuk sintesa protein pada fase S (sel memasuki fase S).<sup>23</sup>

### 2.2.2. Fase Mitosis

Selama fase ini aktivitas sel yang dapat diamati :

1. Kondensasi kromosom
2. Formasi spindle dan pergeseran kromosom ke equator
3. Pemisahan kromosom ke kutub sel
4. Pembentukan lekukan pembelahan
5. Pemisahan akhir menjadi 2 sel (*daughter cell*)

#### FASE PROFASE

Kromatid mengalami kondensasi menjadi lebih pendek dan lebih padat sehingga terbentuk kromosom. Sentrosome yang telah menduplikasi, mulai memproduksi mikrotubulus. Mikrotubulus terus diproduksi ke segala arah, sebagian mikrotubulus dari kutub yang berlawanan bertemu dan berikatan dan mendorong sentrosome bergerak ke kutub sel. Kromosom terus mengalami kondensasi. Membran nukleus menghilang dan pecah menjadi fragmen kecil sehingga kromosom terapung di dalam sitoplasma setelah itu nukleolus menghilang. Setiap kromosom membentuk kinethocor pada setiap sisi sentromer. Sentromer merupakan komplek protein, tempat melekatnya mikrotubulus pada kromosom. Kinethocor memiliki molekular motor yang menggunakan ATP untuk menarik mikrotubulus. Mikrotubulus terus memanjang sehingga ujung mikrotubulus bertemu dengan mikrotubulus dari kutub lain menjadi mikrotubulus polar membentuk mitotic spindle.

Mikrotubulus yang menempel pada kinetokor disebut mikrotubulus kinetokor.

#### FASE METAFASE

Kromosom akan berjajar di garis tengah gelondong (*equatorial plane*), mikrotubulus kinetokor saling tarik – menarik. Setiap kinetokor harus berhubungan dengan mikrotubulus. Bila ada yang terlewat, kinetokor akan memberikan sinyal sehingga proses mitosis tidak berlanjut ke tahap selanjutnya (*mitotic spindle check point*).

#### FASE ANAFASE

Pada fase ini terjadi 2 peristiwa :

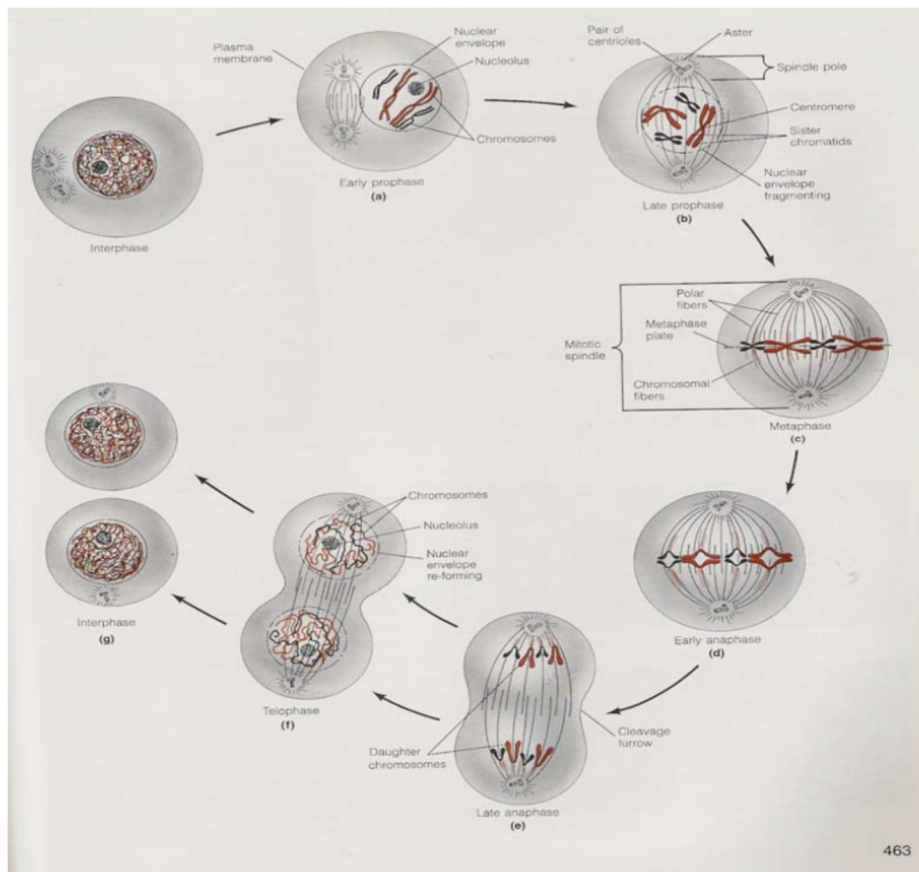
1. Protein yang mengikat 2 kromatid terputus
2. Mikrotubulus kinetokor memendek menarik kromatid ke arah kutub sel

Mikrotubulus polar terus memanjang untuk persiapan sitokinesis. Sitokinesis di akhir anafase dimana sel membagi sitoplasma sama banyak sehingga terbentuk genetik identik untuk setiap sel anakan.

#### FASE TELOFASE

Pada fase ini mikrotubulus kinetokor menghilang, mikrotubulus polar terus memanjang untuk persiapan cytokinesis. Kromosom mencapai kutub sel kemudian mulai membentuk membran inti dengan menggunakan fragmen

membran inti sel induk yang kemudian menyelubungi kromosom. Selanjutnya muncul nukleolus dan kromosom mengalami penguraian.<sup>22,23</sup>



Gambar 3. Fase dalam mitosis

### 2.2.3 Indeks Mitosis

Indek mitosis merupakan suatu indikator yang signifikan dalam mengukur aktivitas sel yang sedang berproliferasi, indek mitosis adalah perbandingan jumlah sel-sel yang mengalami mitosis dengan jumlah keseluruhan sel dalam suatu populasi sel. Secara mikroskopis sel yang sedang

dalam mitosis dapat diketahui dengan pengecatan HE maupun pemeriksaan immunohistokimia Ki-67, yang akan terlihat sel mengalami kondensasi kromatin dan gambaran spindle mikrotubuli.<sup>17</sup>

### **2.3.Pengendalian Pertumbuhan dan differensiasi sel**

Secara umum jumlah sel yang ada pada suatu jaringan merupakan fungsi kumulatif antara masuknya sel baru dan keluarnya sel yang ada pada populasi. Masuknya sel baru dalam suatu jaringan sebagian besar ditentukan oleh kecepatan proliferasinya, sementara sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel atau berdifferensiasi menjadi jenis sel lainnya.<sup>22,23</sup>

Proliferasi sel dapat dirangsang oleh faktor pertumbuhan instrinsik, jejas, kematian sel, bahkan dapat pula oleh deformasi mekanis jaringan. Mediator kimiawi yang terdapat pada lingkungan mikro setempat dapat menghambat atau merangsang pertumbuhan sel. Kendali pertumbuhan yang terpenting adalah penginduksian sel istirahat (*resting cell*) pada fase G<sub>0</sub> ke siklus sel.<sup>22</sup>

Gen yang meningkatkan pertumbuhan otonom pada sel kanker disebut onkogen. Gen ini berasal dari mutasi di protoonkogen dan ditandai dengan kemampuan mendorong pertumbuhan sel walaupun tidak terdapat sinyal pendorong pertumbuhan yang normal. Produk gen ini yang disebut onkoprotein, mirip dengan produk normal protoonkogen, kecuali onkoprotein tidak memiliki elemen regulatorik yang penting, dan produksi gen tersebut dalam sel yang mengalami transformasi tidak tergantung pada faktor

pertumbuhan atau sinyal eksternal lainnya. Pada keadaan fisiologik, proliferasi sel dapat dengan mudah dibagi menjadi langkah berikut

1. Terikatnya suatu faktor pertumbuhan ke reseptor spesifiknya di membran sel
2. Aktivasi reseptor faktor pertumbuhan secara transien dan terbatas, yang kemudian mengaktifkan beberapa protein transduksi sinyal di lembar dalam membran plasma
3. Transmisi sinyal di transduksi melintasi sitosol menuju inti sel
4. Induksi dan aktivasi faktor regulatorik inti sel yang memicu transkripsi DNA
5. Sel masuk ke dalam dan mengikuti siklus sel yang akhirnya menyebabkan sel membelah<sup>20,23</sup>

### **2.3.1 Protein transduksi sinyal**

Mekanisme yang relatif sering digunakan oleh sel kanker untuk memperoleh otonomi pertumbuhan adalah dengan mutasi gen yang mengkode berbagai komponen di jalur penghantar sinyal. Molekul penghantar sinyal ini menghubungkan reseptor faktor pertumbuhan ke sasarannya di inti sel. Banyak protein semacam ini berhubungan dengan lembar dalam membran plasma, tempat protein ini menerima sinyal dari reseptor faktor pertumbuhan yang telah aktif dan menyalurkan sinyal tersebut ke inti sel. Dua anggota penting dalam kategori ini adalah RAS dan ABL.

Sekitar 30 % dari semua tumor manusia mengandung versi muatan gen RAS. Pada beberapa tumor, seperti kolon dan pankreas, insiden mutasi RAS

bahkan lebih tinggi. Mutasi gen RAS adalah kelainan onkogenik yang paling umum pada tumor manusia. Jalur utama sinyal mitogenik pada banyak jenis sel melibatkan protein RAS melalui adaptor SH2-SH3 yang berhubungan dengan protein Sos. Protein Sos secara langsung akan mengaktifkan Ras dengan menginduksi perubahan GDP menjadi GTP. Famili protein RAS berikatan dengan nukleotida guanosin (guanosin trifosfat) dan guanosin difosfat, seperti protein G. Protein Ras normal berpindah bolak-balik antara keadaan tereksitasi dan keadaan tenang (inaktif). Pada keadaan inaktif, protein RAS berikatan dengan GDP, saat sel terangsang oleh faktor pertumbuhan, Ras inaktif menjadi aktif dengan menukar GDP untuk GTP. Ras aktif kemudian mengaktifkan berbagai regulator proliferasi di bagian hilir termasuk jenjang RAF-MAP kinase, yang membanjiri inti sel dengan sinyal untuk proliferasi sel. Namun keadaan tereksitasi penyalur sinyal pada protein RAS normal berlangsung singkat karena aktivitas instrinsik guanosin trifosfatase (GTPase) menghidrolisis GTP menjadi GDP, membebaskan satu gugus fosfat, dan mengembalikan protein ke keadaan basalnya yang inaktif. Aktifitas GTPase pada protein Ras aktif diperkuat secara dramatis oleh suatu famili protein pengaktif GTPase (GAPS). GAPS berfungsi sebagai rem molekuler yang mencegah pengaktifan Ras tak terkontrol dengan mendorong hidrolisis GTP menjadi GDP. Protein Ras mutan dapat berikatan dengan GAPS, tetapi aktifitas GTPasenya tidak mengalami penguatan. Oleh karena itu, Ras mutan terperangkap dalam bentuk aktif (terikat GTP), dan sel didorong untuk percaya bahwa proliferasi harus terus berlanjut. Dari skenario ini dapat disimpulkan



bahwa akibat mutasi pada protein Ras akan sama dengan akibat mutasi di GAPs yang gagal menahan protein Ras normal.<sup>21</sup>

Protein kinase Mek berperan mengaktifkan protein kinase lain, yaitu MAP kinase, yang terletak pada residu threonine maupun tyrosine, sehingga MAP-kinase kinase (MAPKK) berada dalam sitoplasma dan pada proses normal tetap berada jauh dari nukleus selama transmisi sinyal berlangsung. Keberadaan MAPKK jauh dari nukleus diatur oleh *nuclear export signal* (NES) yang terletak pada N-terminal region protein bersangkutan. Keberadaan MAP-kinase juga terbukti merupakan sasaran stimulasi yang umum. Selain dirangsang untuk meneruskan sinyal dari faktor pertumbuhan, MAP-kinase juga berperan pada maturasi meiotik dengan memfasilitasi pembentukan spindle.<sup>21,24</sup>

### **2.3.2 Faktor transkripsi**<sup>23</sup>

Tiga jenis faktor transkripsi yang penting adalah termasuk keluarga fos, jun dan myc. Dalam sel yang sedang istirahat, gen-gen itu dan proteinnya hampir tidak dapat dideteksi. Bila dirangsang dengan PDGF, kadar Fos dan jun meningkat dengan cepat dalam beberapa menit disusul dengan peningkatan myc dalam waktu 1-2 jam. Apabila telah terakumulasi dalam nukleus dalam jumlah cukup, masing-masing faktor transkripsi dapat mengaktifkan sejumlah besar gen responder. Faktor transkripsi fos, jun dan myc diketahui dapat berfungsi sebagai onkogen, dan di antara ketiganya myc adalah kontributor terpenting pada tumorigenesis.<sup>22,23</sup>

Stimulasi faktor pertumbuhan mengakibatkan akumulasi protein nukleus Myc. Dalam keadaan normal ekspresi gen Myc dikontrol secara ketat oleh jalur sinyal sitoplasmik yang diaktivasi oleh mitogen. Tetapi pada keganasan ekspresi gen ini menyimpang dari aturan regulator mitogenik sehingga terjadi produksi protein myc berlebihan. Amplifikasi myc sering dijumpai pada berbagai jenis kanker. Ekspresi berlebihan c-myc mengganggu keseimbangan regulator transkripsi akibat peningkatan heterodimer Myc-max yang berakibat proliferasi sel tidak terkendali.<sup>23</sup>

Aktivitas Ras-Raf-Erk mengakibatkan peningkatan transkripsi gen Mdm2 yang fungsinya menurunkan stabilitas gen p53, peningkatan gen Mdm2 akan menghambat fungsi p53 sebagai gen supressor. Walaupun gen p53 dapat menekan berbagai promoter, fungsinya sebagai aktivator berkorelasi dengan kemampuannya untuk bertindak sebagai gen supressor. Ini berarti bahwa gen sasaran yang ekspresinya dirangsang oleh p53 memiliki fungsi sebagai penghambat pertumbuhan sel. Salah satu gen sasarannya adalah gen p21, yaitu Cdk inhibitor yang menghambat aktivitas kompleks cyclin-cdk yang diperlukan untuk menghentikan siklus sel pada fase G1. Inaktivasi p53 dengan demikian mengakibatkan tidak terbentuknya p21 yang diperlukan untuk menghambat aktivitas kompleks cyclin-cdk sehingga siklus sel tidak berhenti pada fase G1 sebagaimana diperlukan bila ada DNA rusak yang memerlukan reparasi. Akibatnya adalah bahwa DNA rusak direplikasi dan diteruskan kepada sel-sel turunannya yang berakibat transformasi.<sup>22,23</sup>

Produk gen Rb juga dapat berperan sebagai faktor transkripsi walaupun ia sendiri tidak berikatan langsung dengan sekuen DNA sasaran, tetapi Rb berikatan dengan faktor transkripsi lain, khususnya anggota keluarga E2F. Faktor transkripsi E2F menginduksi transkripsi promotor berbagai gen yang diperlukan untuk sintesis DNA maupun yang diperlukan untuk keluar fase G1 misalnya c-myc dan myb. Pengikatan E2F pada Rb menghambat fungsi E2F sebagai faktor transkripsi dan kompleks E2F-Rb bertindak sebagai reseptor. Onkogen virus E1A mengikat Rb pada region yang sama dengan region pengikatan E2F sehingga pengikatan E1A pada Rb menyebabkan E2F bebas untuk melakukan transkripsi gen sasaran yang mengatur siklus sel pada fase G1/S secara terus-menerus sehingga menyebabkan proliferasi sel tidak terkendali.<sup>22,23</sup>

#### **2.4.VOLUME TUMOR**<sup>19</sup>

Secara umum jumlah sel yang ada pada suatu jaringan merupakan fungsi kumulatif antara tumbuhnya sel baru dan keluarnya sel yang ada pada populasi.

Tumbuhnya sel baru dalam suatu jaringan sebagian besar ditentukan oleh kecepatan proliferasinya, sementara sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel atau berdiferensiasi menjadi jenis sel lain. Pada umumnya sel kanker tumbuh biner, secara eksponensial dari 1 sel menjadi 2 sel, 4 sel, 8 sel, dan seterusnya menjadi  $2^n$  sel sampai terbentuk gerombolan sel berupa tumor. Makin besar tumor tersebut seakan-akan makin cepat kanker itu tumbuh. Setelah mencapai besar tertentu pertumbuhan sel kanker itu berubah

dari tumbuh secara eksponensial menjadi secara Gompertz, yaitu pertumbuhannya menjadi lambat dengan makin bertambah besarnya tumor. Pertumbuhan yang lambat tersebut terjadi karena keterbatasan pasokan darah, ruang tempat tumbuh dan daya imunitas tubuh. Besar rata-rata sel kanker ialah  $10^6$  dan tumor sebesar  $1\text{cm}^3$  terdiri dari  $10^9$  ( 1 milyar ) sel, sebesar  $1\text{dm}^3$  terdiri dari  $10^{12}$ . Dengan beban sel sebanyak 1 trilyun (  $10^{12}$  ) sel atau setelah menjalani 40 kali ganda sel kanker telah dapat membunuh penderita dan tidak ada orang yang tahan hidup bila beban sel kanker itu telah mencapai jumlah  $10^{13}$  sel atau setelah sel itu menjalani 44-45 kali ganda. Karena kecepatan tumbuh kanker tidak seimbang dengan kecepatan pasokan darah maka ada sebagian sel kanker akan tidak tumbuh dan mengalami nekrosis.<sup>22</sup>

### **2.5. *Phaleria macrocarpa***

*Phaleria macrocarpa* adalah nomenklatur binomial dari Mahkota dewa dan termasuk dalam familia *Thymelaeaceae*. Kajian pustaka yang telah ada menyebutkan bahwa genus *Phaleria* umumnya memiliki aktivitas anti mikroba, hal ini berkaitan dengan toksisitas tanaman yang cukup tinggi untuk pertahanan diri. Adanya aktivitas anti mikroba ini berhubungan dengan potensi anti kanker terhadap sel pada siklus tertentu.<sup>8,11</sup>

Ekstrak terhadap daging buah dan kulit biji *Phaleria macrocarpa* menunjukkan adanya zat aktif polyphenol, alkaloid, terpenoid dan saponin. Pengujian aktivitas anti kanker dilakukan secara *in vitro*, dengan mengetahui daya hambat pertumbuhan sel leukemia L1210. Dari hasil pengujian ekstrak *Phaleria macrocarpa* diketahui daya hambat pertumbuhan terhadap 50 % sel

leukemia setelah diinkubasi selama 48 jam (IC50) sangat rendah yaitu < 10 ug/ml (4,99 – 7,71 ug/ml), dengan batas IC50 suatu ekstrak tanaman untuk dapat dinyatakan berpotensi sebagai suatu anti kanker adalah 10 ug/ml. Pengujian terhadap toksisitas ekstrak tanaman dilakukan dengan melihat tingkat mortalitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya toksisitas sangat tinggi, dengan nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva udang (LC50) berkisar antara 0,1615 – 11,8351 µg/ml (semakin kecil nilai LC50, semakin toksik tanaman tersebut dan semakin berpotensi untuk memiliki aktifitas biologi / efek farmakologi), dengan batas aktifitas biologi tanaman adalah LC50<1000 µg/ml. Penelitian yang dilakukan terhadap sel Hela, menunjukkan bahwa *Phaleria macrocarpa* mempunyai efek sitotoksik yang cukup kuat. *Phaleria macrocarpa* mempunyai efek sitotoksik yang bermakna dibandingkan efek sitotoksik Doxorubicin sebagai kontrol positifnya.<sup>12,13</sup>

Senyawa polyphenol yang terkandung dalam *Phaleria macrocarpa* mempunyai efek memblok reseptor growth faktor, dan menghambat *Mitogen – Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal *Receptor Tirosin Kinase* (RTKs).<sup>13,14</sup> Polyphenol juga akan memblok berbagai RTKs, seperti *Epidermal Growth factor receptor (EGFR)*, *Platelet Derived Growth Factor Receptor (PDGF)*, *Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR)*. Jalur signal pada RTKs mempunyai fungsi yang luas dalam regulasi pembelahan sel, differensiasi, survival, dan pengaturan metabolisme sel p21. Pada sel maligna diidentifikasi adanya bentuk mutant pada growth receptornya, sehingga akan

memberikan signal yang terus – menerus pada inti sel, meskipun tidak ada stimulasi *growth factor*.<sup>15,16</sup>

Di Gamaleya Institute of Microbiology and Epidemiology, Moscow, Russia dan Chittaranjan National Cancer Institute, Kolkata, India beberapa peneliti – yang meneliti efek kandungan polyphenol pada herbal medicine – mengemukakan bahwa poliphenol alamiah dapat menstimulasi produksi Interferon- $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) dalam suatu populasi immunosit, yang sangat penting dalam memacu aktivasi CTL's dan sel NK pada sistem perondaan imun terhadap sel-sel kanker.<sup>18</sup> Sel imun yang berperan besar dalam perondaan imun terhadap kanker adalah CTL, Sel-NK (*Natural Killer*). Setelah sel kanker dikenal sebagai sel asing, sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker. Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksisitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan *perforin* dan *granzyme*, di mana perforin ini sebagai *pore forming* untuk memasukkan *granzyme* ke dalam sitosol. Akibat aktifitas sel-sel efektor immune tersebut maka sel-sel target akan mengalami apoptosis.<sup>15,16</sup>

Polyphenol dalam tanaman obat dilaporkan mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivasi *Nuclear Faktor Kappa B* (NF- $\kappa$ B), suatu *transcription faktor* yang berperan penting dalam regulasi molekul pembentukan protein anti apoptosis.<sup>45</sup> Polyphenol juga akan mempunyai efek menginduksi terjadinya apoptosis melalui jalur TNF- $\alpha$ , di mana apoptosis sel akan dimulai dari *Fas / TNF-RI receptor*.<sup>15,16</sup>

Salamat B dkk melakukan penelitian pada mencit C3H yang menderita adenokarsinoma mamma, di mana diberikan ekstrak *Phaleria macrocarpa* dengan pelarut ethanol melalui cara sokletasi. Perlakuan selama 3 minggu dengan dosis 0,0715 mg /hari atau setara 5 gram crude/hari yang sudah diberikan pada manusia, mendapatkan hasil bahwa ekspresi perforin CTL dan sel-NK serta indeks apoptosis sel tumor (dengan pengecatan HE) mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol, dan terjadi hambatan pertumbuhan diameter tumor yang signifikan. Pada pemberian dosis sampai dengan 0,140 mg/hari tidak ditemukan adanya toksisitas/kerusakan organ vital seperti ginjal, hepar, lien, dan otot jantung.<sup>25</sup>

Berdasarkan penelitian Endang Astuti dkk mengenai uji sitotoksitas ekstrak daging dan biji buah *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl terhadap sel mononuklear normal perifer manusia menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging dan buah *Phaleria macrocarpa* bersifat tidak toksik terhadap sel mononuklear normal. Ekstrak etanol biji buah *Phaleria macrocarpa* bersifat lebih toksik dibandingkan dengan daging buah terhadap sel mononuklear normal ( $P < 0,05$ ). Penyebab perbedaan aktivitas sitotoksik antara ekstrak etanol daging dan biji buah *Phaleria macrocarpa* diperkirakan karena adanya perbedaan kandungan senyawa dari kedua ekstrak etanol tersebut. Telah diketahui bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol daging dan biji buah *Phaleria macrocarpa* adalah alkaloid dan flavonoid. Ekstrak etanol daging dan fraksi – fraksi hasil kromatografi kolom mengandung alkaloid, triterpenoid, dan flavonoid, sedangkan bagian biji hanya mengandung

senyawa alkaloid yaitu nalorfin (N-alilnormorfin). Alkaloid bersifat racun pada manusia tetapi sebagian besar mempunyai aktivitas fisiologis yang menonjol dan dapat digunakan secara luas dalam pengobatan. Oleh karena itu, dapat dimungkinkan alkaloid yang terkandung dalam biji buah mempunyai pengaruh yang lebih besar daripada flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daging buah terhadap kematian sel mononuklear normal. Menurut hasil analisa dari penelitian ini, toksisitas ekstrak etanol biji buah *Phaleria macrocarpa* terhadap sel mononuklear normal masih lebih rendah dibandingkan terhadap sel kanker antara lain terhadap T47D cell line dan sel Raji, sedangkan bagian daging bersifat toksik terhadap sel Raji. Toksisitas yang lebih kecil terhadap sel normal ini dimungkinkan karena terdapat tiga perbedaan antara sel kanker dan sel normal, yaitu :

1. Antigen spesifik tumor sebagai target immunoterapik.
2. Onkogen spesifik tumor adalah target potensial untuk agen terapik.
3. Hilangnya fungsi gen tumor-supressor, yang mempermudah tahapan dalam onkogenesis, sebagai target dari agen terapik.<sup>25</sup>

Sel mononuklear normal merupakan pertahanan tubuh (sistem imun) yang berfungsi melawan agen asing yang masuk seperti bakteri, virus, dan antigen lainnya. Oleh karena itu, dengan adanya perbedaan toksisitas ekstrak etanol daging dan biji buah *Phaleria macrocarpa* terhadap sel normal dan sel kanker maka diharapkan *Phaleria macrocarpa* dapat digunakan sebagai terapi tambahan anti kanker yang bersifat selektif terhadap sel kanker.<sup>26,27</sup>



Dalam kaitannya dengan pengobatan kanker, tantangan utama dalam terapi kanker adalah mengidentifikasi perbedaan spesifik antara sel kanker dan sel normal yang menjadi target dari obat – obat kemoterapi sehingga berakibat kematian pada sel kanker dan memiliki toksisitas sekecil mungkin terhadap sel normal.<sup>27</sup>