

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Kanker Kolorektal**

Kanker kolorektal adalah keganasan yang berasal dari jaringan usus besar di bagian kolon dan atau rektum. Secara patologi anatomi, kanker kolorektal masuk ke dalam jenis adenokarsinoma yang morfologinya dibagi atas bagian proksimal dan bagian distal. Tumor pada bagian proksimal umumnya tumbuh sebagai massa polipoid, eksofitik yang meluas sepanjang salah satu dinding sekum dan kolon asenden yang berdiameter besar sebaliknya, tumor kolon pada bagian distal memiliki morfologi berbentuk lesi anular yang membuat *napkin ring* yang menyebabkan konstiksi dan penyempitan lumen dan kadang dapat menyebabkan obstruksi.<sup>23</sup>

Berdasarkan *American Joint Committee on Cancer (AJCC)* klasifikasi dari kanker kolon dan harapan hidup berdasarkan klasifikasinya tertera pada Tabel 2 dan Tabel 3.

**Tabel 2.** “ *Tumor Node Metastasis (TNM)* “ Klasifikasi kanker kolorektal AJCC”

Tanda	Deskripsi
<b>Tumor</b>	
Tis	Displasia in situ atau karsinoma intramukosa
T1	Tumor menginvasi submukosa
T2	Tumor menginvasi muskularis propia, tetapi tidak menembus
T3	Tumor menginvasi dan menembus muskularis propia
T4	Tumor menginvasi organ yang bersebelahan atau peritoneum viseral
<b>Kelenjar Getah Bening Regional</b>	
NX	Kelenjar getah bening tidak dapat dinilai
N0	Tidak terdapat metastasis ke kelenjar getah bening regional
N1	Metastasis dalam satu sampai tiga kelenjar getah bening regional
N2	Metastasis dalam empat atau lebih kelenjar getah bening regional
<b>Metastasis Jauh</b>	
MX	Metastasis jauh tidak dapat dipastikan
M0	Tidak terdapat metastasis jauh
M1	Metastasis jauh atau penyebaran (“ <i>seeding</i> ”) ke organ abdomen

**Tabel 3.** Stadium Kolorektal dan Ketahanan Hidup AJCC

Stadium	Klasifikasi TNM			Ketahanan hidup 5 tahun (%)
	T	N	M	
<b>I</b>	T1,T2	N0	M0	74
<b>II</b>				
<b>IIA</b>	T3	N0	M0	67
<b>IIB</b>	T4	N0	M0	59
<b>III</b>				
<b>IIIA</b>	T1,T2	N1	M0	73
<b>IIIB</b>	T3,T4	N1	M0	46
<b>IIIC</b>	Setiap T	N2	M0	28
<b>IV</b>	Setiap T	Setiap N	M1	6

### 2.1.1. Faktor Risiko

Etiologi kanker kolorektal berhubungan dengan perubahan molekular sel, faktor lingkungan dan juga faktor makanan serta faktor-faktor risiko yang lain. <sup>1,24</sup>

Faktor risiko kanker kolorektal terdiri dari faktor risiko yang tidak dapat

dimodifikasi dan yang dapat dimodifikasi. Faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi yaitu:

a. Usia

Risiko kanker kolorektal meningkat seiring bertambahnya usia. Diagnosis kanker kolorektal meningkat progresif sejak usia 40-an dan meningkat tajam di atas umur 50-an. Angka kejadian pada usia 60-79 tahun lebih tinggi 50 kali dibandingkan pada usia 40 tahun.<sup>7,25</sup>

b. Faktor Hereditas

Sekitar 20% dari penderita kanker kolorektal memiliki riwayat keluarga. Anggota keluarga tingkat pertama (*first-degree*) pasien yang baru didiagnosis adenoma kolorektal atau kanker kolorektal invasif memiliki peningkatan risiko kanker kolorektal. *Familial adenomatous polyposis* (FAP) dan *hereditary nonpolyposis colorectal cancer* (HNPCC) atau dikenal dengan sindroma Lynch adalah kondisi yang paling sering diwariskan.<sup>1,7,25</sup>

c. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan berpengaruh terhadap kanker kolorektal terbukti dari individu yang bermigrasi dari daerah yang berisiko tinggi ke daerah yang berisiko rendah akan meningkatkan insiden kanker kolorektal menyerupai daerah tersebut.<sup>25</sup>

Sedangkan faktor risiko yang dapat dimodifikasi adalah:

a. Pola diet dan nutrisi

Diet berpengaruh kuat terhadap risiko kanker kolorektal dan perubahan pola makan dapat mengurangi risiko kanker ini hingga 70%.<sup>25</sup> Faktor diet yang erat kaitannya dengan kanker kolorektal adalah rendahnya asupan serat nabati dan tingginya asupan karbohidrat olahan dan lemak.<sup>23</sup> Pola diet kemungkinan memiliki pengaruh langsung, melalui unsur-unsur makanan dan secara tidak langsung melalui kelebihan nutrisi dan obesitas. Diet juga memiliki pengaruh yang besar pada mikroorganisme kolektif (*microbiome*) di usus besar di mana sel-sel bakteri melebihi jumlah sel inang. Komposisi lingkungan yang beragam ini memiliki peran positif maupun negatif dalam perkembangan tumor melalui pengaruhnya pada respon imun dan inflamasi.<sup>7,26</sup>

b. Kurangnya aktivitas fisik dan obesitas

Aktivitas fisik meningkatkan metabolisme tubuh dan motilitas usus dan apabila dilakukan secara reguler mempunyai efek protektif dan dapat menurunkan risiko kanker kolorektal sampai 50%.<sup>1,25</sup> Kurangnya aktivitas fisik dapat menyebabkan terjadinya obesitas. Obesitas menyebabkan penimbunan hormon, peningkatan kadar insulin dan *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), pemicuan regulator pertumbuhan tumor, gangguan respons imun dan stres oksidatif, sehingga memicu terjadinya kanker kolorektal.

c. Merokok

Merokok memiliki zat karsinogen yang dapat meningkatkan pertumbuhan kanker kolorektal yaitu pembentukan dan pertumbuhan polip adenomatosa dan prekursor kanker. Merokok lebih sering menyebabkan kanker rektum daripada kanker kolon. <sup>1,7,25</sup>

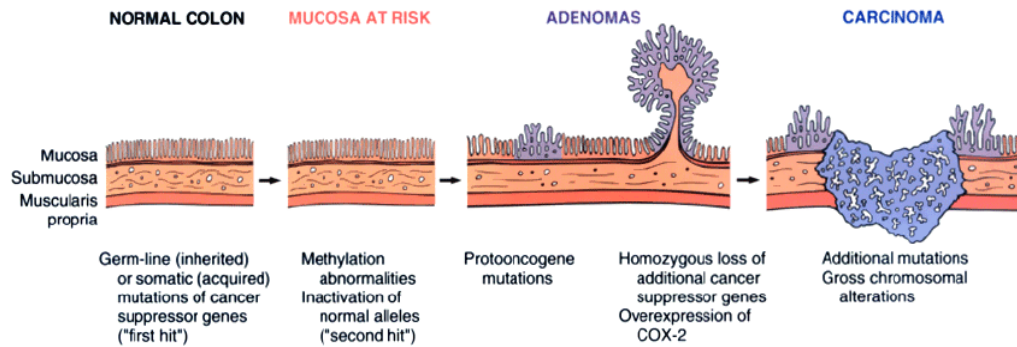
d. Alkohol

Pengguna alkohol sedang sampai berat menaikkan risiko terkena kanker kolorektal. <sup>7</sup> Individu yang meminum alkohol 2-4 porsi alkohol tiap harinya selama hidupnya, memiliki risiko terkena kanker kolorektal 23% lebih tinggi daripada mereka yang hanya meminum kurang dari satu porsi alkohol perhari. <sup>1</sup> Alkohol memiliki metabolit reaktif bersifat karsinogenik seperti asetaldehid. Alkohol berperan sebagai solven yang meningkatkan penetrasi molekul karsinogen ke dalam sel mukosa. Prostaglandin, peroksidase lipid dan generasi ROS (*reactive oxygen species*) memediasi efek alkohol. Selain itu konsumsi tinggi alkohol biasanya berhubungan dengan nutrisi rendah sehingga rentan terhadap karsinogen. <sup>25</sup>

### **2.1.2. Patofisiologi**

Karsinogenesis dari kanker kolorektal merupakan kombinasi molekuler yang menyebabkan adenokarsinoma kolorektal yang bersifat heterogen termasuk abnormalitas genetik dan epigenetik.<sup>23</sup> Perubahan pada gen-gen pertumbuhan seperti APC (*adenomatous polyposis coli*), *k-ras* dan *tp53* memuncak pada perkembangan neoplasia maligna dan jalur ini menyumbang sekitar 85% dari perkembangan kanker kolorektal yang muncul dari polip adenomatosis yang sebelumnya. Jalur genetik yang mempengaruhi adalah APC/ $\beta$ -katenin dan

peristiwa epigenetik tersering adalah metilasi gen *silencing* yang meningkatkan progresi jalur genetik.<sup>23</sup>



**Gambar 1.** Perubahan Epitel Pada Kanker Kolorektal

(Sumber: *Robbin & Cotran Pathologic Basic of Disease 8th. Ed*)

Selain disebabkan oleh perubahan gen, kanker kolorektal juga dapat disebabkan oleh adanya inflamasi, hal ini biasanya berhubungan dengan penyakit *irritable bowel disease* (IBD) yaitu kolitis ulseratif dan penyakit Crohn. Inflamasi menyebabkan perubahan neoplastik dengan meningkatkan perubahan sel epitelial di mukosa kolon. Terbukti dengan biopsi dari pasien kolitis ulseratif bahwa terdapat banyak mitosis dan apoptosis terutama di tempat yang inflamasinya aktif.<sup>27</sup> Patogenesis dari terjadinya kanker kolorektal berhubungan dengan inflamasi kronik seperti induksi dari COX-2, sitokin penyebab inflamasi dan kemokin. COX-2 diinduksi oleh inflamasi dan diaktifkan oleh stimulus inflamasi seperti *interleukin* (IL)-1, *interferon* (IFN)- $\gamma$  dan *tumor necrosis factor* (TNF)- $\alpha$ . Penelitian yang sebelumnya menunjukkan bahwa COX-2 meningkat pada 50% adenoma dan 85% di adenokarsinoma.<sup>28</sup>

TNF- $\alpha$  dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi dan sel T yang akan menempel pada TNF reseptor dan memicu inflamasi dan kolitis yang

berhubungan dengan kanker.<sup>28</sup> TNF- $\alpha$  juga dapat memicu perkembangan kanker dengan induksi mutasi gen dengan menyebabkan kerusakan DNA melalui ROS dan menyebabkan peningkatan transformasi kearah keganasan.<sup>28</sup> *Toll like receptor* (TLR4) juga sangat penting dalam karsinogenesis pada kolitis kronik. Aktivasi TLR4 muncul dan memicu terbentuknya kolitis yang berhubungan dengan kanker kolorektal dengan meningkatkan produksi COX-2 dan *epidermal growth factor receptor* (EGFR). Sitokin seperti IL-6 dan IL-23 berperan juga dalam mempertahankan inflamasi usus pada penyakit IBD.<sup>27</sup>

Stres oksidatif juga berkontribusi dalam patogenesis kanker kolorektal dengan cara menyerang protein dan asam nukleat yang menyebabkan denaturasi dan perubahan lain dari gen. Stres oksidatif ini dihasilkan dari respon reaksi inflamasi dari sel yang sedang inflamasi karena pada sel yang sedang inflamasi terdapat neutrofil dan makrofag yang memproduksi banyak sekali *reactive oxygen* dan *nitrogen species* (RONS). Jaringan yang mengalami inflamasi pada kolitis ulseratif dan penyakit Crohn memperlihatkan peningkatan NOS (*nitric oxide synthase*) dan RONS. RONS dapat *berhubungan* dengan gen-gen utama yang terlibat dalam jalur karsinogenesis yaitu p53 dan DNA *missmatch repair*. Level hidrogen peroksida yang non-sitotoksik juga mengurangi aktivitas sistem *missmatch repair* secara dramatis.<sup>28</sup> Pada penelitian ini, peneliti meneliti pengaruh ekstrak daun *Carica pubescens* pada jalur inflamasi.

### **2.1.3. Azoxymethane (AOM) Sebagai Induksi Hewan Coba dengan Kanker Kolorektal**

*Azoxymethane* atau AOM adalah zat karsinogenik yang bersifat poten yang dapat menyebabkan kanker kolorektal pada tikus. AOM dapat menginduksi kanker kolorektal pada tikus dengan patogenesis yang identik dengan patogenesis kanker kolorektal pada manusia.

AOM yang telah diinduksikan ke dalam tikus akan dimetabolisme menjadi *methyl-azoxymethane* (MAM) oleh CYP2E1 yang akan menyebabkan mutasi pada DNA. Terbentuknya MAM akan mempengaruhi *k-ras*,  $\beta$ -katenin dan TGF- $\beta$ . Mutasi pada *k-ras* akan menyebabkan regulasi sinyal intraseluler *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan *phosphoinositide-3 kinase/Akt* (PI3K/Akt) yang akan meregulasi pertumbuhan sel, proliferasi dan metabolisme glukosa. Mutasi pada  $\beta$ -katenin akan menyebabkan tidak terjadi degradasi  $\beta$ -katenin oleh *Glycogen Synthase Kinase-3 Beta* (GSK-3 $\beta$ ) dan menyebabkan penumpukan  $\beta$ -katenin yang akan menyebabkan proliferasi sel. Mutasi pada TGF- $\beta$  menyebabkan fungsinya sebagai agen pro-apoptosis dihambat.<sup>29</sup>

Dosis AOM terbaik yang digunakan untuk menginduksi kanker kolorektal adalah 10 mg/KgBB yang ditetapkan sebagai toleransi dosis maksimal untuk pembentukan tumor.<sup>29</sup>

## **2.2. *Carica pubescens***

Pepaya gunung atau *Carica pubescens* atau yang dikenal juga dengan *Vasconcellea pubescens* merupakan tanaman dari genus *Carica* yang dapat dikonsumsi dan hanya dibudidayakan di dataran tinggi Dieng, Jawa Tengah.



*Carica pubescens* yang merupakan tanaman dari Andes, Amerika Selatan tumbuh di tempat yang memiliki ketinggian ~2000 m di atas permukaan laut (mdpl), sehingga tidak semua dataran tinggi di Dieng dapat ditumbuhi oleh tanaman ini. Hanya yang memiliki



ketinggian di atas 2000 mdpl saja yang dapat ditumbuhi *Carica* seperti Desa Sembungan yang berada di kawasan puncak Dieng dengan ketinggian  $\pm 2400$  mdpl.<sup>30</sup> Tanama *Carica pubescens* ini, banyak dimanfaatkan sebagai manisan carica (*carica in syrup*), dodol carica, keripik carica, selai carica, sirup dan sebagainya.<sup>31,32</sup>

**Gambar 2.** Tanaman *Carica pubescens*

### **2.2.1. Efek daun *Carica pubescens* terhadap kanker**

Pada penelitian mengenai aktivitas anti kanker daun pepaya (*Carica papaya*) dan induksi apoptosis fraksi kloroform daun pepaya terhadap kultur sel kanker mieloma didapatkan hasil bahwa fraksi kloroform daun pepaya memiliki aktivitas anti kanker terhadap sel mieloma dan mampu menginduksi apoptosis. Kematian sel kanker mieloma secara apoptosis karena pengaruh fraksi kloroform

daun pepaya (*Carica papaya* L) dengan kandungan utama alkaloid diduga melalui tahapan awal menghambat enzim DNA Topoismerase II sehingga dapat menyebabkan kematian sel secara apoptosis.<sup>33</sup>

### **2.2.2. Efek daun *Carica pubescens* terhadap Inflamasi**

Daun carica memiliki kandungan aktif berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, polifenol dan tanin, serta terpenoid dan saponin.<sup>21</sup> Penelitian secara in vivo maupun in vitro menunjukkan bahwa flavonoid memiliki efek anti-radang, anti-bakteri, anti-alergi, anti-karsinogen dan melindungi pembuluh darah.<sup>22</sup> *Carica papaya* merupakan tumbuhan yang merupakan satu genus dengan tanaman *Carica pubescens* yang memiliki kandungan senyawa aktif yang sama.<sup>34</sup> Beberapa penelitian menyebutkan bahwa ekstrak daun *Carica papaya* dapat berfungsi sebagai anti-inflamasi seperti pada penurunan jumlah limfosit dan neutrofil pada tikus yang diinduksi oleh *P. gingivatis*.<sup>15,20</sup> Hal ini disebabkan karena adanya flavonoid yang menghambat sintesis *eukisanoid* melalui penurunan kandungan asam arakidonat pada jaringan membran fosfolipid sel yang mengakibatkan terhambatnya pelepasan sejumlah mediator inflamasi seperti prostaglandin, leukotrin dan tromboksan.<sup>20</sup>

Selain flavonoid, daun Carica memiliki senyawa anti-oksidan lain yang berpengaruh terhadap kanker dan inflamasi, yaitu senyawa *phenolic* yang dapat ditemukan di kulit dan daging buah pepaya.<sup>17</sup> *Phenolic* dapat dijadikan sebagai kemopreventif dan menghambat karsinogenesis dari kanker kolorektal.<sup>35,36</sup> Selain itu, pada tanaman Carica terdapat anti-oksidan *glucosinolates* dan *carotenoid* yang juga memiliki efek anti kanker.<sup>17</sup>

### 2.3. Leukosit

Leukosit atau *white blood cell* adalah sel darah yang mengandung inti.<sup>37</sup> Leukosit merupakan unit aktif dalam sistem pertahanan tubuh yang fungsi utamanya adalah merusak bahan-bahan infeksius, toksik dan asing melalui proses fagositosis serta membentuk antibodi. Leukosit dapat melakukan gerakan amuboid dan melalui proses diapedesis leukosit dapat meninggalkan kapiler dengan menerobos antara sel-sel endotel dan menembus ke dalam jaringan penyambung.<sup>16,37</sup> Di dalam darah manusia jumlah leukosit normal rata-rata 5000-9000 sel/mm<sup>3</sup>.<sup>37</sup> Bila jumlahnya > 12000 maka dapat dikatakan mengalami peningkatan jumlah sel leukosit atau leukositosis sedangkan bila jumlahnya < 5000 dapat dikatakan terjadi penurunan jumlah sel leukosit atau leukopenia.

Leukosit dibagi menjadi dua yaitu granulosit yang terdiri dari neutrofil, basofil dan eosinofil serta agranulosit yang terdiri dari limfosit dan monosit. Leukosit tersebut berasal dari stem sel seperti gambar 2.

Granulosit yang paling dominan, yaitu neutrofil, diproduksi dalam 7-14 hari, bertahan dalam sirkulasi selama 6 jam serta neutrofil merupakan leukosit terbanyak dalam darah sekitar 60-70% .<sup>38,39</sup> Fungsi utama neutrofil adalah fagositosis. Neutrofil memiliki granula sitoplasma dan inti berlobus. Sitoplasma neutrofil mengandung granula halus berwarna ungu atau merah muda. Memiliki inti yang terdiri dari 2-5 lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin halus.<sup>40</sup> Peningkatan jumlah neutrofil dalam darah mengindikasikan adanya infeksi dari bakteri.<sup>39</sup> Eosinofil, terdapat dalam darah sekitar 2-4% dengan karakteristik yaitu terdapat inti dua lobus dan memiliki granula merah dan besar yang tercat oleh

eosin.<sup>39</sup> Dalam sistem imun, eosinofil berperan dalam reaksi alergi dan infeksi parasit.<sup>39</sup>

Basofil jumlahnya 0-1% dari leukosit darah, inti satu, besar bentuk pilinan ireguler, umumnya bentuk huruf S, sitoplasma basofil terisi granula yang lebih besar, dan seringkali granula menutupi inti, granulanya berbentuk ireguler berwarna metakromatik.<sup>37</sup>

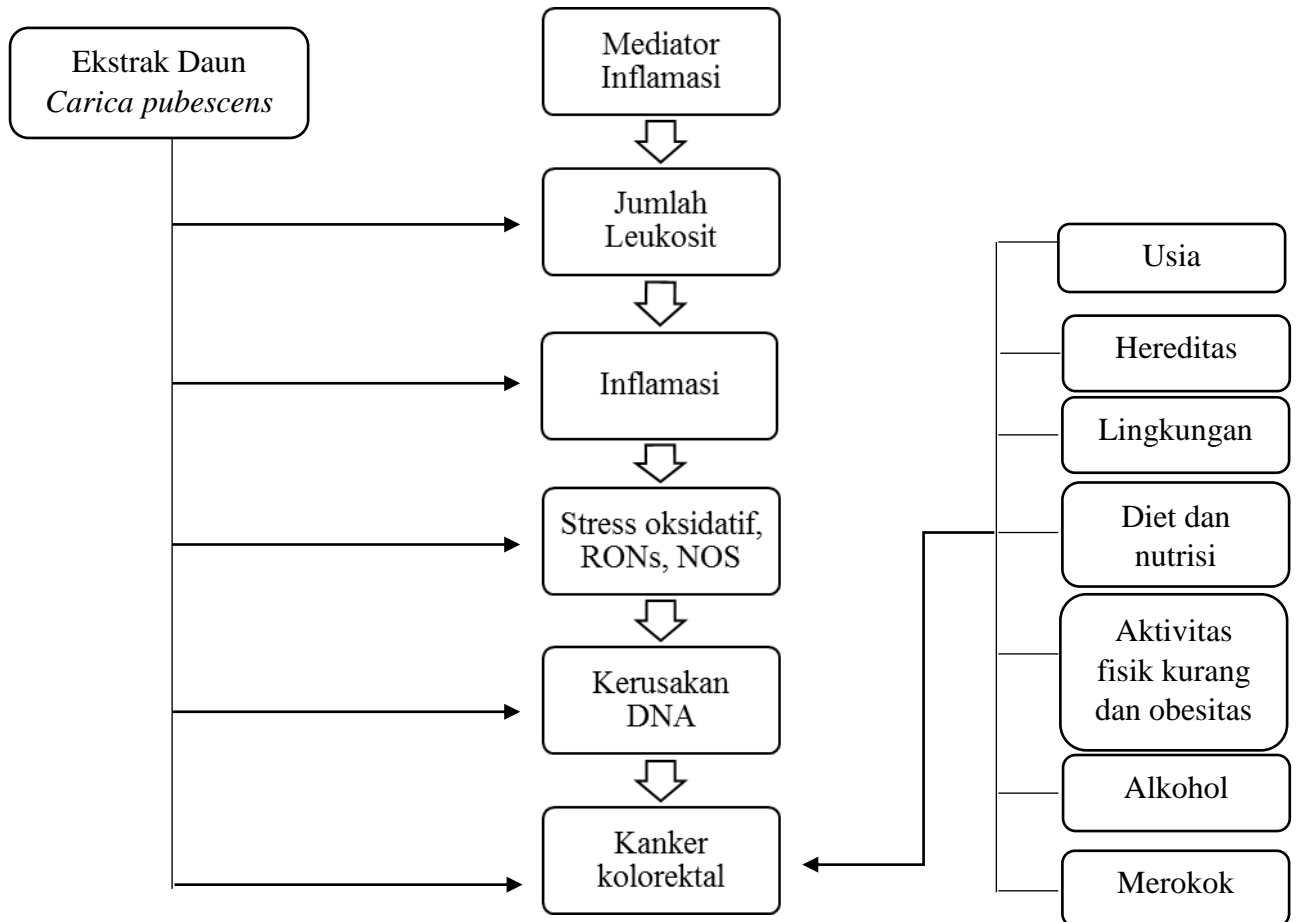
Limfosit merupakan leukosit yang agranuler sehingga tidak terdapat granula di sitoplasmanya. Limfosit memiliki inti bulat dan ada yang berbentuk tapal kuda.<sup>40</sup> Beberapa limfosit dibentuk di sumsum tulang belakang tetapi kebanyakan dibentuk di kelenjar limfe dan timus dan setelah itu akan terbentuk limfosit T dan B. Limfosit T berperan dalam sistem imun yang dimediasi sel sedangkan limfosit B berperan dalam sistem imun humoral yang akan menghasilkan antibodi.<sup>41</sup> Monosit adalah leukosit agranular terbesar, intinya bervariasi dan berwarna lebih muda dari inti limfosit.<sup>40</sup> Monosit dari sumsum tulang beredar dalam darah sekitar kurang lebih 72 jam. Monosit akan masuk ke jaringan dan berubah menjadi makrofag jaringan. Sel ini diaktivasi oleh limfosit T dan memiliki peran seperti neutrofil.<sup>41</sup>

### **2.3.1. Pengaruh Leukosit terhadap Kanker Kolorektal**

Di Korea, terdapat sebuah penelitian oleh *Korean Cancer Prevention Study* (KCPS) yang menggunakan desain penelitian kohort prospektif yang bertujuan untuk menilai faktor risiko dari mortalitas dan insiden kanker. KCPS menemukan keterkaitan antara peningkatan sel darah putih atau leukosit dengan kanker kolon, di mana kenaikan leukosit menyebabkan peningkatan risiko

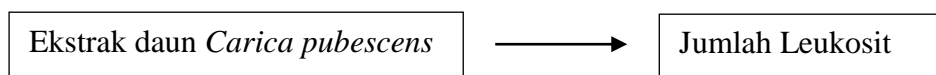
insidensi dan mortalitas kanker kolon pada pria dan wanita. Penemuan ini juga membuktikan bahwa inflamasi dapat meningkatkan risiko kanker kolon.<sup>6</sup>

## 2.4. Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

## 2.5. Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka Konsep

## **2.6. Hipotesis**

### **2.6.1. Hipotesis Mayor**

Terdapat efek pemberian ekstrak daun *Carica pubescens* terhadap jumlah leukosit pada tikus *Sparague dawley* yang diinduksi *azoxymethane*.

### **2.6.2. Hipotesis Minor**

- a. Jumlah leukosit pada kelompok yang diberi ekstrak daun *Carica pubescens* dengan dosis 100 mg/kgBB lebih rendah daripada kelompok kontrol yang diinduksi *azoxymethane*.
- b. Jumlah leukosit pada kelompok yang diberi ekstrak daun *Carica pubescens* dengan dosis 200 mg/kgBB lebih rendah daripada kelompok kontrol yang diinduksi *azoxymethane*.
- c. Jumlah leukosit pada kelompok yang diberi ekstrak daun *Carica pubescens* dengan dosis 400 mg/kgBB lebih rendah daripada kelompok kontrol yang diinduksi *azoxymethane*.
- d. Jumlah leukosit pada kelompok yang diberi ekstrak daun *Carica pubescens* dosis 100mg/kgBB lebih tinggi daripada kelompok dosis 200 mg/kgBB.
- e. Jumlah leukosit pada kelompok yang diberi ekstrak daun *Carica pubescens* dosis 100mg/kgBB lebih tinggi daripada kelompok dosis 400 mg/kgBB.
- f. Jumlah leukosit pada kelompok yang diberi ekstrak daun *Carica pubescens* dosis 200mg/kgBB lebih tinggi daripada kelompok dosis 400mg/kgB.