

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA
(*Dendrothoe pentandra*) TERHADAP EKSPRESI TGF- β PADA MENCIT
MODEL COLITIS-ASSOCIATED COLON CANCER**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh :

Ego Frendy Damara

0910710063

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU
MANGGA (*Dendrothoe pentandra*) TERHADAP EKSPRESI TGF- β
PADA MENCIT MODEL COLITIS-ASSOCIATED COLON CANCER**

Oleh :

Ego Frendy Damara

NIM: 0910710063

Telah diuji pada

Hari : Rabu

Tanggal : 27 Februari 2013

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Arliek Rio Julia, MS.

NIP. 194812191980032002

Penguji II/Pembimbing I

Penguji III/Pembimbing II

Agustina Tri Endharti, S.Si, PhD

NIP 1966908 19199802 2 001

dr. Sudjari, DTM&H, M.Si., Sp. Park

NIP . 1951042 1198002 1 003

Mengetahui,
Ketua Program Studi

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H., M.SC., Sp.Par.K

NIP. 19520410 198002 1 001

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT. Karena hanya dengan berkah-Nya, penulisan tugas akhir ini dapat selesai. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Dalam proses penulisan tugas akhir ini, penulis juga banyak didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Karyono M, Sp.PA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan mulai dari proses awal pembuatan proposal penelitian, hingga tugas akhir ini selesai.
3. dr. Sudjari, DTM&H, M.Si, Sp. ParK selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penulisan tugas akhir ini.
4. dr. Arliek Rio Julia MS selaku dosen penguji 1 yang bersedia meluangkan waktunya untuk menjadi dosen penguji.
5. Seluruh keluarga yang penulis sayangi: Ayahanda Surojo dan Ibunda Winarsih, mas Wawan Harianto, mbak Tutut, mas Tomy Arthana, mbak Yunita Mayasari, mas Ambar Tri Wibowo, dan mbak Agustinarsih yang sudah begitu bijak memahami penulis apa adanya dan senantiasa

memberi doa dan dukungan kepada penulis. Keponakan keponakan penulis yang lucu (Angga, Rama, Raka, veve) yang bisa menghibur disaat penulis merasa stress.

6. Masa depanku, Nila Vilantari yang tak lelah memberi semangat, saran, doa dan selalu mengingatkan ketika penulis malas dalam mengerjakan tugas akhir. Terima kasih untuk pengertian dan perhatianmu selama ini.
7. Sahabat-sahabat terbaikku (Dije, Mangku, Adma, Diyas, Bimo, Hamada, DS, Bobby, Felix) terima kasih atas doa, bantuan, semangat, serta kebersamaannya dalam meraih gelar sarjana kedokteran.
8. Petugas laboratorium parasitologi FKUB yang telah membantu penulis dalam mengerjakan penelitian.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga Tugas Akhir ini dapat diterima dan bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkan.

Malang, Februari 2013

Penulis

ABSTRAK

Damara, Ego Frendy. 2013. **Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Terhadap Ekspresi TGF- β Pada Mencit Model *Colitis Associated-Colon Cancer***. Tugas akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Sudjari, DTM&H, M.Si, Sp. Park

Kanker kolon adalah keganasan dari sel epitel usus besar. Kolitis ulseratif merupakan pemicu meningkatkan risiko kanker kolon. Salah satu sitokin yang berperan dalam proses inflamasi adalah *transforming growth factor*- β (TGF- β). Tanaman yang dapat digunakan untuk pencegahan kanker kolon adalah benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Tujuan penelitian ini adalah untuk menunjukkan bahwa ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat meningkatkan jumlah ekspresi TGF- β pada mencit model *colitis associated colon cancer*. Penelitian ini menggunakan *true experimental-post test only control group design*. Terdiri 5 kelompok tikus, semua kelompok sampel diberi 10mg intra-peritoneal AOM pada hari pertama, kemudian DSS 5% per oral dicampur air minum setiap hari pada minggu ke 1, 4, 7, dan 10, kecuali kelompok E (kontrol negatif). Ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) diberikan dengan sonde setiap hari selama penelitian untuk tiga kelompok, B (125mg/kgBB), C (250mg/kgBB), dan D (500mg/kgBB). Pada minggu ke 12 mencit dikorbankan dan dilihat ekspresi TGF- β . Hasil dari uji statistik menunjukkan perbedaan ekspresi TGF- β yang signifikan ($p < 0,05$), uji korelasi antara variabel menunjukkan korelasi yang kuat ($p = 0,000$) dan koefisien korelasi yang positif (0,774). Kesimpulan penelitian ini ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada mencit model *colitis-associated colon cancer* dengan dosis optimal 500mg/KgBB.

Kata kunci : Kanker kolon, Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*), TGF- β .

ABSTRACT

Damara, Ego Frendy. 2013. **Effect of Ethanol Extracts of Benalu Mangga leaf (*Dendrophthoe pentandra*) against TGF- β Expression In Mice Model Colitis-Associated Colon Cancer.** Final Assignment, Medical Program, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisors : (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Sudjari, DTM&H, M.Si, Sp. Park

Colon cancer is a malignancy of the colon epithelial cells. Ulcerative colitis is a trigger to increase the risk of colon cancer. One of these cytokines play a role in the inflammatory process is transforming growth factor- β (TGF- β). Plants that can be used for the prevention of colon cancer is a benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). The purpose of this study is to demonstrate that the benalu mangga leaf (*Dendrophthoe pentandra*) extract can increase the expression of TGF- β in the mouse model of colitis-associated colon cancer. This study used true experimental-post test only control group design. Consist of 5 groups of mouse, all sample groups were given 10mg of intra-peritoneal AOM on the first day, then 5% DSS orally mixed in drinking water everyday on weeks 1, 4, 7, and 10, except for group E (negative control). Benalu mangga leaf (*Dendrophthoe pentandra*) extract is given per oral everyday during the research for the three groups, B (125mg/kgBW), C (250mg/kgBW), and D (500mg/kgBW). At week 12 mice were sacrificed and look for expression of TGF- β . The results of the statistical test showed TGF- β expression differences were significant ($p < 0.05$), the correlation test between the variables showed a strong correlation ($p = 0.000$) and a positive correlation coefficient (0.774). The conclusion of this study is benalu mangga leaf (*Dendrophthoe pentandra*) extract can increase the expression of TGF- β in the mouse model of colitis-associated colon cancer with optimal doses 500mg/KgBW.

Keyword : Colon cancer, Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*), TGF- β

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan.....	ixv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
2.3.1 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Akademik.....	4
1.4.2 Praktis	4

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... 5

2.1 Kanker kolon 5

2.1.1 Pengertian Kanker kolon 5

2.1.2 Anatomi kolon 5

2.1.3 Fungsi kolon..... 8

2.1.4 Epidemiologi..... 8

2.1.5 Faktor yang mempengaruhi..... 9

2.1.6 Gambaran klinis..... 13

2.1.7 Patologi 14

2.1.8 Stadium 15

2.1.9 Diagnosis..... 16

2.1.10 Pencegahan 19

2.1.11 Pengobatan 20

2.2 Azoxymethana (AOM) dan Dekstran Sodium Sulfat (DSS) sebagai induksi *colitis-associated colon cancer*..... 21

2.3 Respon imun terhadap kanker kolon 22

2.3.1 Imunitas humoral 22

2.3.2 Imunitas seluler 23

2.4 Transforming Growth Factor- β (TGF- β) 24

2.5 Peran TGF- β pada tumor 25

2.6 Benalu mangga (*Dendrophthoe petandra*)..... 26

2.6.1 Taksonomi..... 26

2.6.2 Nama daerah 27

2.6.3 Kandungan 27

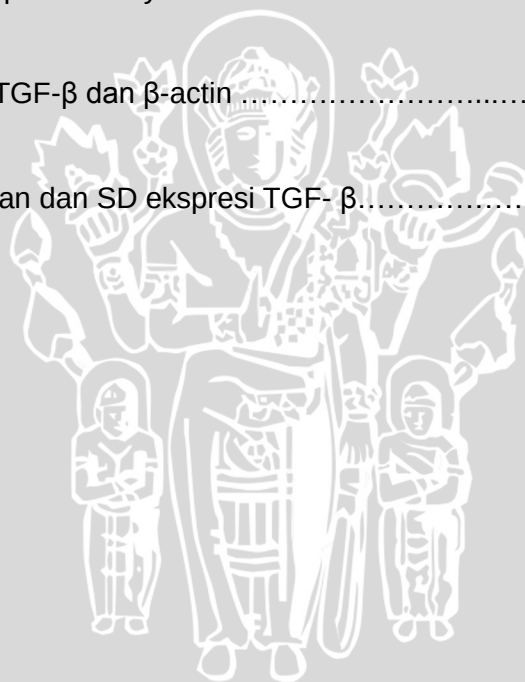
2.6.4 Flavonoid 27

BAB 3 KERANGKA KONSEP	29
3.1 Kerangka Konsep.....	29
3.2 Hipotesis Penelitian	31
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	32
4.1 Rancangan Penelitian.....	32
4.2 Sampel Penelitian.....	32
4.3 Identifikasi Variabel Penelitian	33
4.3.1 Variabel Bebas (Independen)	33
4.3.2 Variabel Tergantung (Dependen)	33
4.3.3 Definisi Operasional Variabel	33
4.4 Bahan dan Alat Penelitian.....	34
4.4.1 Bahan Ekstrak Benalu Mangga (<i>Dendrophthoe pentandra</i>)	34
4.4.2 Instrumen Penelitian.....	35
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian	36
4.6 Pengelompokan Subyek Penelitian	36
4.7 Prosedur Penelitian	37
4.7.1 Ekstraksi Benalu Mangga (<i>Dendrophthoe petandra</i>)	37
4.7.2 Preperasi Hewan Coba	37
4.7.3 Pembuatan Model Kanker Kolon	37
4.7.4 Isolasi Jaringan Kolon Mencit	38
4.7.5 Isolasi RNA.....	39

4.7.6	RT PCR	40
4.7.7	Prosedur Kerja PCR	41
4.7.8	Prosedur Elektroforesis Horizontal.....	42
4.7.9	Ekspresi TGF- β	44
4.8	Pengolahan dan Analisis Data	45
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA		46
5.1	Hasil Penelitian	46
5.1.1	Ekspresi TGF- β	46
5.2	Analisis Data	48
5.2.1	Uji Korelasi	51
BAB 6 PEMBAHASAN		52
BAB 7 PENUTUP		56
7.1	Kesimpulan	56
7.2	Saran	56
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN		61

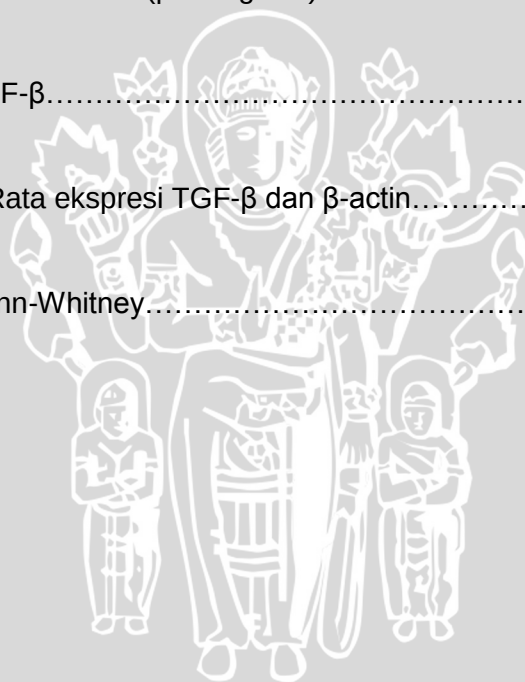
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi Kolon.....	6
Gambar 2.2 Induksi sel T untuk Merespon Sel Tumor.....	24
Gambar 2.3 Peran TGF- β Dalam Kanker.....	26
Gambar 4.1 Pengelompokan Subyek Penelitian.....	36
Gambar 5.1 Ekspresi TGF- β dan β -actin	47
Gambar 5.2 Grafik Mean dan SD ekspresi TGF- β	48



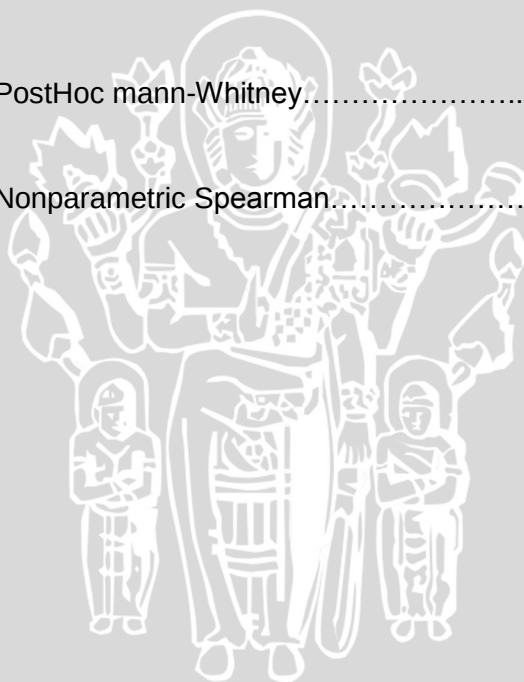
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Sistem Staging Kanker Dukes.....	15
Tabel 4.1 Bahan RT PCR.....	40
Tabel 4.2 Mix Reaksi (Promega kit).....	41
Tabel 4.3 Cycling Condition PCR (promega kit).....	42
Tabel 4.4 Ekspresi TGF- β	44
Tabel 5.1 Hasil Rata-Rata ekspresi TGF- β dan β -actin.....	47
Tabel 5.2 Hasil Uji Mann-Whitney.....	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Grafik Berat Badan Mencit.....	61
Lampiran 2. Foto Kolon Mencit.....	61
Lampiran 3. Tabel Uji normalitas Saphiro wilk.....	62
Lampiran 4. Tabel Uji Kruskal Wallis.....	62
Lampiran 5. Tabel Uji PostHoc mann-Whitney.....	63
Lampiran 6. Tabel Uji Nonparametric Spearman.....	64



DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Adenomatosis Polyposis Coli</i>
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
TGF	: <i>Transforming Growth Factor</i>
COX	: <i>Siklooksigenase</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
AOM	: <i>Azoxymethane</i>
DSS	: <i>Dextran Sulfate Sodium Salt</i>
FAP	: <i>Familial Adenomatosa Polyposis</i>
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
HNPCC	: <i>Hereditary Nonpolyposis Colon Cancer</i>
CEA	: <i>Carcino Embryonic Antigen</i>
DCBE	: <i>Double Contras Barium Enema</i>
Gen APC	: <i>Adenopoliposis coli</i>
FS	: <i>Flexible Sigmoidoscopy</i>
ACS	: <i>American Cancer Society</i>
OAin	: <i>Obat Antiinflamasi Nonsteroid</i>
LAR	: <i>Low Anterior Resection</i>
ADCC	: <i>Antibody Dependent Cell Cytotoxicity</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
TAA	: <i>Tumor Associated Antigen</i>
CTL	: <i>Cytotoxic T Lymphocytes</i>

TSA	: Tumor Specific Antigen
MHC	: Major Histocompatibility Complex
IgG	: Immunoglobulin G
Th	: T helper
HE	: Hematoxylin & Eosin
PLA2	: Phospolipase A2
TNF	: Tumor Necrosis Factors
IL	: Interleukin
IFN	: Interferon
NF-Kb	: Nuclear Factor-KappaB
APC	: Antigen Presenting Cell
ROS	: Reaktif Oksigen
PBS	: Fofat Bufer Salin
RNA	: Ribonucleic Acid
RT PCR	: Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction
BB	: Berat Badan
SD	: Standard Deviation

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Kanker kolon atau usus besar adalah keganasan dari sel epitel kolon atau rektum (Mc.Graw-Hill 2002). Kanker kolon merupakan salah satu dari beberapa jenis kanker yang ada di dunia yang menempati urutan nomor 2 dalam frekuensinya dan merupakan penyebab kematian nomor 4 dari kematian karena kanker di dunia. Pada tahun 2007 *Case Fatality Rate* (CFR) akibat kanker kolon 33,94% di seluruh dunia (Wolphin, 2008, Dragovic, 2009). Berdasarkan laporan Ditjen Bina Yanmedik (2009), kanker merupakan salah satu dari sepuluh penyakit utama penyebab kematian di rumah sakit di Indonesia dengan CFR pada tahun 2007 4,82% dan pada tahun 2008 4,70% (Depkes RI, 2009). Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia 2008, neoplasma ganas kolon di Indonesia berada pada peringkat 9 dari 10 peringkat utama penyakit neoplasma ganas pasien rawat inap di seluruh rumah sakit di Indonesia dengan jumlah kasus sebanyak 1.810 dengan proporsi 4,92% (Depkes RI, 2009). Dikaitkan dengan paparan terhadap berbagai karsinogen dan gaya hidup, insiden kanker kolon tinggi pada populasi dengan western diet tipe dengan kalori yang tinggi dari lemak hewani (WHO, 2007).

Penyakit radang usus (colitis ulseratif) merupakan pemicu meningkatkan resiko kanker kolorektal. Patogenesis kanker kolon juga dipengaruhi oleh mutasi genetik, terutama mutasi somatik dari gen penekan tumor *adenomatosis polyposis coli* (APC) yang menyebabkan sindrom *familial adenomatosis coli* (Abdullah, 2007).

Pengobatan kanker dilakukan dengan berbagai cara yaitu kemoterapi, penyinaran, pembedahan, dan terapi kombinasi. Namun masing-masing cara dari pengobatan kanker tersebut masih memiliki kelemahan. Pengobatan dengan cara pembedahan pada umumnya tidak efektif untuk sel yang telah mengalami metastasis, pengobatan dengan penyinaran seringkali tidak selektif dan tidak aman untuk sel-sel normal, dan pengobatan secara kemoterapi belum memberikan hasil yang optimal karena kerja obat yang tidak spesifik sehingga dapat merusak sel normal (Padmi, 2008).

Penatalaksanaan kanker yang belum tepat, belum efektif dan efek samping obat maka perlu dicari pencegahan untuk kanker kolon selain dengan imunitas salah satunya dengan memanfaatkan bahan herbal yang mudah didapat. Tanaman yang diduga dapat digunakan sebagai pencegahan untuk kanker adalah daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) (Purnomo, 2000).

Karsinogen azoxymetane (AOM), dan dekstran sulfate sodium salt (DSS) banyak dipakai untuk menghasilkan kanker kolorektal sporadik. Strain mencit yang ditemukan sensitif terhadap karsinogenesis kolon yang diinduksi AOM/DSS yaitu BALB/c, C3H/Hen, C57BL dan DBA/2N. Pengujian sensitivitas AOM/DSS terhadap beberapa strain mencit dilaporkan oleh Suzuki *et al.* (2006).

Daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) adalah tanaman pengganggu atau parasit pada pohon mangga. Tanaman ini hama bagi tanaman induk karena bersifat parasit obligat yang mendapatkan makanan dari pohon inang. Daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) mengandung flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid dan saponin (Ikawati *et al.*, 2004). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam benalu mangga adalah kuersetin yang juga didapatkan pada benalu teh yang memiliki sifat antikanker (Ikawati *et al.*

2004). Bila dilihat dari kadar kuersetinnya, maka benalu mangga lebih menjanjikan sebagai fitofarmaka daripada benalu teh karena kadar kuersetin dari benalu mangga sebesar 39,8 mg/g lebih tinggi daripada benalu teh yang kadarnya hanya mencapai 9,6 mg/g (Rosidah, *et al.*, 1999). Kuersetin dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan anti alergi sehingga dapat menaikkan imunitas. Kuersetin lebih selektif menghambat COX (siklooksigenase) dari pada lipooksigenase, sehingga dapat dikembangkan sebagai agen inhibitor COX yang merupakan agen kemoterapeutik yang berpotensi terutama pada kanker kolon (Taketo, 1998).

Transforming growth factor- β (TGF- β) adalah protein yang disekresikan untuk meregulasi proliferasi, diferensiasi dan kematian dari berbagai jenis sel. Semua jenis sel imun, termasuk sel B, sel T dan sel dendritik serta makrofag, mensekresi TGF- β yang mengatur proliferasi, diferensiasi dan aktivasi oleh sitokin lain. TGF- β adalah immunosuppressor utama yang berhubungan dengan autoimun, peradangan dan kanker.(Rifa'i, 2009)

Dengan dasar diatas penulis mencoba melakukan penelitian eksperimental laboratorium yang akan menggunakan hewan coba mencit Balb/c yang dibuat model *colitis-associated colon cancer* dengan induksi AOM dan DSS yang kemudian diberi ekstrak daun benalu mangga (*dendrophthoe pentandra*). Pengamatan dilakukan dengan melihat ekspresi TGF- β pada kolon mencit.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) pada mencit Balb/c model colitis-associated colon cancer ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) pada mencit balb/c model *colitis-associated colon cancer*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui perbedaan ekspresi TGF- β pada mencit model *colitis-associated colon cancer* setelah pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) pada berbagai dosis.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Akademik

- 1) Dasar penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai pencegah kanker kolon.
- 2) Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat daun benalu mangga.

1.4.2 Praktis

- 1) Dapat memanfaatkan daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai cara pencegahan dini terhadap kanker kolon dengan mencegah terjadinya inflamasi yang berulang.
- 2) Dapat menambah nilai benalu mangga (*dendrophthoe pentandra*).

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker kolon

2.1.1 Pengertian Kanker kolon

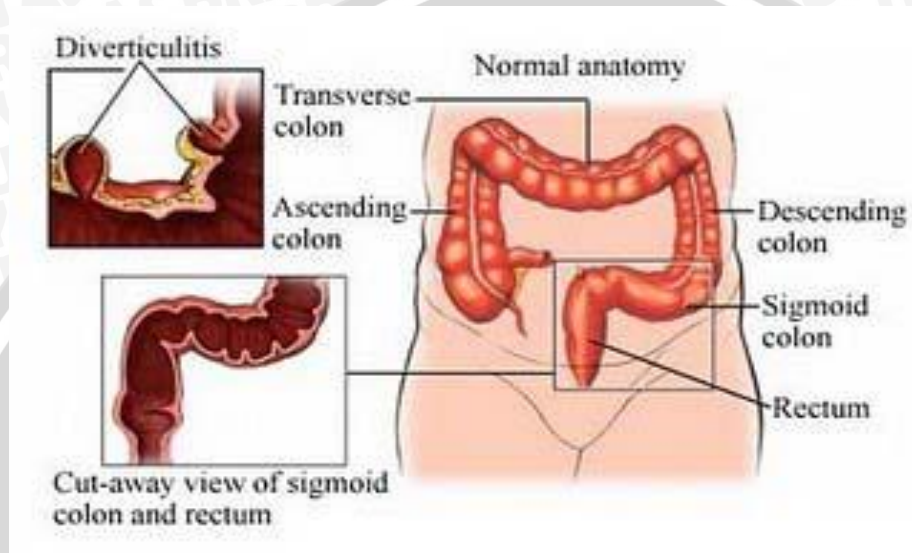
Kanker kolon ditujukan pada tumor ganas yang berasal dari mukosa kolon. Kebanyakan kanker kolon berkembang dari polip, oleh karena itu polypectomy kolon mampu menurunkan kejadian kanker kolorektal. Polip kolon dan kanker pada stadium dini terkadang tidak menunjukkan gejala. (McGraw-hill, 2002). Secara histopatologis, hampir semua kanker usus besar adalah adenokarsinoma (terdiri atas epitel kelenjar) dan dapat mensekresi mukus yang jumlahnya berbeda-beda. Tumor dapat menyebar melalui infiltrasi langsung ke struktur yang berdekatan, seperti ke dalam kandung kemih, melalui pembuluh limfe ke kelenjar limfe *pericolon* dan *mesocolon*, dan melalui aliran darah, biasanya ke hati karena kolon mengalirkan darah ke sistem portal (Lindseth, 2006).

2.1.2 Anatomi *Colon*

Usus besar atau *colon* berbentuk tabung muskular berongga dengan panjang sekitar 1,5 m (5 kaki) yang terbentang dari *caecum* hingga *canalis ani*. Diameter usus besar sudah pasti lebih besar daripada usus kecil, yaitu sekitar 6,5 cm (2,5 inci), tetapi makin dekat anus diameternya semakin kecil (Lindseth, 2006).

Usus besar terdiri dari 6 bagian, yaitu *caecum*, *colon ascenden*, *colon transversum*, *colon descenden*, *colon sigmoid* dan *rectum*. Berbeda dengan

mukosa usus halus, pada mukosa *colon* tidak dijumpai vili dan kelenjar biasanya lurus-lurus dan teratur. Permukaan mukosa terdiri dari pelapis epitel tipe absorptive diselang-seling dengan sel goblet. Pada lamina propria dan basis kriptas secara sporadik terdapat nodul jaringan limfoid (Tambunan, 1994).



Gambar 2.1. Anatomi kolon : kolon ascenden kolon transversum, kolon descenden, sigmoid dan rectum (Sari, 2010)

Struktur usus besar:

a. *Caecum*

Merupakan kantong yang terletak di bawah muara ileum pada usus besar. Panjang dan lebarnya kurang lebih 6 cm dan 7,5 cm. *Caecum* terletak pada *fossa iliaca* kanan di atas setengah bagian *lateralis ligamentum inguinale*. *caecum* dibungkus oleh peritoneum sehingga dapat bergerak bebas, tetapi tidak mempunyai mesenterium, terdapat perlekatan ke *fossa iliaca* di sebelah medial dan lateral melalui lipatan peritoneum yaitu *plica caecalis*, menghasilkan suatu kantong peritoneum kecil, *recessus retrocaecalis* (Widjaja, 2009).

b. *Colon ascenden*

Bagian ini memanjang dari *caecum* ke *fossa iliaca* kanan sampai ke sebelah kanan abdomen. Panjangnya 13 cm, terletak di bawah abdomen

sebelah kanan, dan di bawah hati membelok ke kiri. Lengkungan ini disebut *fleksura hepatica (fleksura coli dextra)* dan dilanjutkan dengan *colon transversum* (Syaifuddin, 2002).

c. *Colon Transversum*

Merupakan bagian usus besar yang paling besar dan paling dapat bergerak bebas karena tergantung pada *mesocolon*, yang ikut membentuk *omentum majus*. Panjangnya antara 45-50 cm, berjalan menyilang abdomen dari *fleksura coli dekstra sinistra* yang letaknya lebih tinggi dan lebih ke lateralis. Letaknya tidak tepat melintang (transversal) tetapi sedikit melengkung ke bawah sehingga terletak di *regio umbilicalis* (Widjaja, 2009).

d. *Colon descend*

Panjangnya lebih kurang 25 cm, terletak di bawah abdomen bagian kiri, dari atas ke bawah, dari depan *fleksura lienalis* sampai di depan ileum kiri, bersambung dengan *sigmoid*, dan dibelakang peritoneum (syaifuddin, 2002).

e. *Colon sigmoid*

Disebut juga *colon pelvinum*. Panjangnya kurang lebih 40 cm dan berbentuk lengkungan huruf S. Terbentang mulai dari *apertura pelvis superior (pelvic brim)* sampai peralihan menjadi *rectum* di depan vertebra S-3. Tempat peralihan ini ditandai dengan berakhirnya ketiga *teniae coli*, dan terletak + 15 cm di atas anus. *Colon sigmoideum* tergantung oleh *mesocolon sigmoideum* pada dinding belakang pelvis sehingga dapat sedikit bergerak bebas (*mobile*) (widjaja, 2009).

f. *Rectum*

Bagian ini merupakan lanjutan dari usus besar, yaitu *colon sigmoid* dengan panjang sekitar 15 cm. *Rectum* memiliki tiga kurva lateral serta kurva

dorsoventral. Mukosa dubur lebih halus dibandingkan dengan usus besar (Saladin, 2008).

Rectum memiliki 3 buah valvula : superior kiri, medial kanan dan inferior kiri. 2/3 bagian distal *rectum* terletak di rongga *pelvic* dan terfiksir, sedangkan 1/3 bagian proksimal terletak di rongga abdomen dan relatif *mobile*. Kedua bagian ini dipisahkan oleh *peritoneum reflectum* dimana bagian anterior lebih panjang dibanding bagian posterior. Saluran anal (*anal canal*) adalah bagian terakhir dari usus, berfungsi sebagai pintu masuk ke bagian usus yang lebih proksimal, dikelilingi oleh *spinkter ani* (eksternal dan internal) serta otot-otot yang mengatur pasase isi *rectum* ke dunia luar. Spinkter ani eksterna terdiri dari 3 *sling* : atas, medial dan depan (Shafik, 2000).

2.1.3 Fungsi kolon

Usus besar atau kolon mengabsorpsi 80% sampai 90% air dan elektrolit dari kimus yang tersisa dan mengubah kimus dari cairan menjadi massa semi padat. Usus besar hanya memproduksi *mucus*. Sekresinya tidak mengandung enzim atau hormon pencernaan. Sejumlah bakteri dalam *colon* mampu mencerna sejumlah kecil selulosa dan memproduksi sedikit kalori nutrisi bagi tubuh dalam setiap hari. Bakteri juga memproduksi vitamin K, riboflavin, dan tiamin, dan berbagai gas. Usus besar mengekskresi zat sisa dalam bentuk feses (Sloane, 2004).

2.1.4. Epidemiologi

Sekitar 75% dari kanker kolon terjadi pada orang yang tidak memiliki faktor risiko tertentu. Sisanya sebesar 25% kasus terjadi pada orang dengan faktor-faktor risiko yang umum, sejarah keluarga atau pernah menderita kanker

kolorectal atau polip, terjadi sekitar 15-20% dari semua kasus. Faktor-faktor risiko penting lainnya adalah kecenderungan genetik tertentu, seperti *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer* (HNPCC; 4-7% dari semua kasus) dan *Familial Adenomatosa Polyposis* (FAP, 1%) serta *Inflammatory Bowel Disease* (IBD; 1% dari semua kasus) (Cagir et al, 2009).

Kanker kolon merupakan salah satu penyakit yang mematikan. Berdasarkan laporan *World Cancer Report* WHO, diperkirakan 944.717 kasus ditemukan di seluruh dunia pada tahun 2000 (WHO, 2000).

Eropa, sebagai salah satu negara maju memiliki angka kesakitan kanker kolon yang tinggi. Pada tahun 2004, terdapat 2.886.800 kasus dan 1.711.000 kematian karena kanker dengan CFR 59,27%, kanker kolon menduduki peringkat kedua pada angka insiden dan mortalitas (Casciato, 2004).

Insidens kanker kolon di Indonesia cukup tinggi, demikian juga angka kematiannya. Pada tahun 2002 kanker kolon menduduki peringkat kedua pada kasus kanker yang terdapat pada pria, sedangkan pada wanita kanker kolorectal menduduki peringkat ketiga dari semua kasus kanker. Pada kebanyakan kasus kanker, terdapat variasi geografik pada insidens yang ditemukan, yang mencerminkan perbedaan sosial ekonomi dan kepadatan penduduk, terutama antara negara maju dan berkembang (Syamsuhidajat, 2004).

2.1.5. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi

Adapun beberapa faktor yang mempengaruhi kejadian kanker *colon* yaitu:

a. Umur

Kanker kolon sering terjadi pada usia tua. Lebih dari 90% penyakit ini menimpa penderita di atas usia 40 tahun, dengan insidensi puncak pada usia 60-70 tahun (lansia). Kanker kolon ditemukan di bawah usia 40 tahun yaitu pada

orang yang memiliki riwayat *colitis ulceratif* atau *polyposis familial* (Lindseth, 2006).

b. Faktor Genetik

Meskipun sebagian besar kanker kolorektal kemungkinan disebabkan oleh faktor lingkungan, namun faktor genetik juga berperan penting. Sekitar 6% kelainan genetik pada manusia diketahui mempunyai hubungan dengan penyakit neoplasma yakni *familial adenomatous polyposis* (FAP) dan *hereditary nonpolyposis colon cancer* (HNPCC). Gen yang bertanggung jawab untuk FAP yaitu gen APC, yang berlokasi pada kromosom 5q21. Adanya defek pada APC dapat menggiring kepada kemungkinan pembentukan kanker kolorektal pada umur 40 sampai 50 tahun. Pasien dengan HNPCC mempunyai kecenderungan untuk menderita kanker kolorektal pada umur yang sangat muda, dan screening harus dimulai lebih dini 5 tahun dari umur anggota keluarga yang pertama kali terdiagnosa kanker kolorektal yang berhubungan HNPCC. Karsinogenesis yang terakselerasi HNPCC dapat menjadi karsinoma dalam 2-3 tahun, bila dibandingkan dengan proses pada rata-rata kanker kolorektal yang membutuhkan waktu 8-10 tahun. Sekitar 1% dari penderita kanker kolon memiliki riwayat kronik ulseratif kolitis (van Hogezaand *et al.* 2002).

c. Faktor Lingkungan

Kanker kolon timbul melalui interaksi yang kompleks antara faktor genetik dan faktor lingkungan. Sejumlah bukti menunjukkan bahwa lingkungan berperan penting pada kejadian kanker kolon. Risiko mendapat kanker kolon meningkat pada masyarakat yang bermigrasi dari wilayah dengan insiden kanker kolon yang rendah ke wilayah dengan risiko kanker kolon yang tinggi. Hal ini

menambah bukti bahwa lingkungan sentrum perbedaan pola makanan berpengaruh pada karsinogenesis (Abdullah, 2007).

d. Faktor Makanan

Makanan mempunyai peranan penting pada kejadian kanker kolon. Mengonsumsi serat sebanyak 30 gr/hari terbukti dapat menurunkan risiko timbulnya kanker kolon sebesar 40% dibandingkan orang yang hanya mengonsumsi serat 12 gr/hari. Orang yang banyak mengonsumsi daging merah (misal daging sapi, kambing) atau daging olahan lebih dari 160 gr/hari (2 porsi atau lebih) akan mengalami peningkatan risiko kanker kolon sebesar 35% dibandingkan orang yang mengonsumsi kurang dari 1 porsi per minggu (Sari, 2010).

Menurut Daldiyono *et al.* (1990), dikatakan bahwa serat makanan terutama yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin sebagian besar tidak dapat dihancurkan oleh enzim-enzim dan bakteri di dalam *tractus digestivus*. Serat makanan ini akan menyerap air di dalam kolon, sehingga volume feses menjadi lebih besar dan akan merangsang syaraf pada rektum, sehingga menimbulkan keinginan untuk defekasi. Dengan demikian tinja yang mengandung serat akan lebih mudah dieliminir atau dengan kata lain *transit time* yaitu kurun waktu antara masuknya makanan dan dikeluarkannya sebagai sisa makanan yang tidak dibutuhkan tubuh menjadi lebih singkat. Waktu transit yang pendek, menyebabkan kontak antara zat-zat iritatif dengan mukosa kolorektal menjadi singkat, sehingga dapat mencegah terjadinya penyakit di kolon dan rektum. Di samping menyerap air, serat makanan juga menyerap asam empedu sehingga hanya sedikit asam empedu yang dapat merangsang mukosa kolorektal, sehingga timbulnya karsinoma kolorektal dapat dicegah (Sari, 2010).

e. *Polyposis Familial*

Polyposis Familial diwariskan sebagai sifat dominan autosom. Insiden pada populasi umum adalah satu per 10.000. Jumlah total polip bervariasi 100-10.000 dalam setiap usus yang terserang. Bentuk polip ini biasanya mirip dengan polip adenomatosun bertangkai atau berupa polip sesil, akan tetapi multipel tersebar pada mukosa kolon. Sebagian dari poliposis ini asimtomatik dan sebagian disertai keluhan sakit di abdomen, diare, sekresi lendir yang meningkat dan perdarahan kecil yang mengganggu penderita. Polip cenderung muncul pada masa remaja dan awal dewasa dan risiko karsinoma berkembang di pasien yang tidak diobati adalah sekitar 90% pada usia 40 tahun (Sari, 2010).

f. Polip Adenoma

Polip Adenoma sering dijumpai pada usus besar. Insiden terbanyak pada umur sesudah dekade ketiga, namun dapat juga dijumpai pada semua umur dan laki-laki lebih banyak dibanding dengan perempuan. Polip adenomatosum lebih banyak pada *colon sigmoid* (60%), ukuran bervariasi antara 1-3 cm, namun terbanyak berukuran 1 cm. Polip terdiri dari 3 bagian yaitu puncak, badan dan tangkai. Polip dengan ukuran 1,2 cm atau lebih dapat dicurigai adanya adenokarsinoma. Semakin besar diameter polip semakin besar kecurigaan keganasan. Perubahan dimulai dibagian puncak polip, baik pada epitel pelapis mukosa maupun pada epitel kelenjar, meluas ke bagian badan dan tangkai serta basis polip. Risiko terjadinya kanker meningkat seiring dengan meningkatnya ukuran dan jumlah polip (Tambunan, 1994).

g. Adenoma Vilosa

Adenoma vilosa jarang terjadi, berjumlah kurang dari 10% adenoma kolon. Terbanyak dijumpai di daerah *rectosigmoid* dan biasanya berupa massa

papiler, soliter, tidak bertangkai dan diameter puncak tidak jauh berbeda dengan ukuran basis polip. Adenoma vilosa mempunyai insiden kanker sebesar 30-70%. Adenoma dengan diameter lebih dari 2 cm, risiko menjadi kanker adalah 45%. Semakin besar diameter semakin tinggi pula insiden kanker (Chandrasoma, 2004).

h. *Colitis Ulserosa*

Perkiraan kejadian kumulatif dari kanker kolorektal yang berhubungan dengan *colitis ulserosa* adalah 2,5% pada 10 tahun, 7,6% pada 30 tahun, dan 10,8% pada 50 tahun. *Colitis ulserosa* dimulai dengan mikroabses pada kript mukosa kolon dan beberapa abses bersatu membentuk ulkus. Pada stadium lanjut timbul pseudopolip yaitu penonjolan mukosa kolon yang ada diantara ulkus. Perjalanan penyakit yang sudah lama, berulang-ulang, dan lesi luas disertai adanya pseudopolip merupakan resiko tinggi terhadap karsinoma. Pada kasus demikian harus dipertimbangkan tindakan kolektomi. Tujuannya adalah mencegah terjadinya karsinoma (preventif) dan menghindari penyakit yang sering berulang-ulang. Karsinoma yang timbul sebagai komplikasi *colitis ulserosa* sifatnya lebih ganas, cepat tumbuh dan metastasis (Lee, 2005).

2.1.6 Gambaran Klinis

Karsinoma kolon dan rektum dapat menyebabkan ulserasi, atau perdarahan, menimbulkan obstruksi bila membesar, atau menembus (*invasi*) keseluruhan dinding usus dan kelenjar-kelenjar regional. Kadang-kadang bisa terjadi perforasi dan menimbulkan abses di peritonium. Keluhan dan gejala tergantung juga dari lokasi dan besarnya tumor (Simadibrata, 1997).

a. Karsinoma *Colon* Sebelah Kanan

Penting untuk diketahui bahwa umumnya pasien dengan karsinoma pada *caecum* atau pada ascending *colon* biasanya memperlihatkan gejala nonspesifik seperti kekurangan zat besi (anemia). Kejadian anemia ini biasanya meningkatkan kemungkinan terjadinya karsinoma *colon* yang belum terdeteksi, yang lebih cenderung berada di proksimal daripada di *colon* distal. Beberapa tanda gejala yang terlihat yaitu berat badan yang menurun dan sakit perut pada bagian bawah yang relatif sering, tetapi jarang terjadi pendarahan di anus. Pada 50-60% pasien terdapat massa yang teraba di sisi kanan perut (Sari, 2010).

b. Karsinoma *colon* sebelah kiri

Jika karsinoma terletak pada bagian distal, maka kemungkinan besar akan ada gangguan pada kebiasaan buang air besar, serta adanya darah di feses. Beberapa karsinoma pada transversa *colon* dan *colon sigmoid* dapat teraba melalui dinding perut (Sari, 2010).

Karsinoma sebelah kiri lebih cepat menimbulkan obstruksi, sehingga terjadi obstipasi. Tidak jarang timbul diare paradoksikal, karena tinja yang masih encer dipaksa melewati daerah obstruksi partial (Simadibrata, 1997).

2.1.7. Patologi

Pada umumnya, dalam perjalanan penyakit, pertumbuhan adenokarsinoma usus besar sebelah kanan dan kiri berbeda. Adenokarsinoma usus besar kanan (*caecum*, *colon ascenden*, *transversum* sampai batas *flexura lienalis*), tumor cenderung tumbuh eksofitik atau polipoid. Pada permulaan, massa tumor berbentuk sesil, sama seperti tumor kolon kiri. Akan tetapi kemudian tumbuh progresif, bentuk polipoid yang mudah iritasi dengan simtom *habit bowel*: sakit di abdomen yang sifatnya lama. Keluhan sakit, sering berkaitan dengan makanan/minuman atau gerakan peristaltik dan kadang-kadang disertai

diare ringan. Berat badan semakin menurun dan anemia karena adanya perdarahan kecil tersembunyi. Konstipasi jarang terjadi, mungkin karena volum *colon* kanan lebih besar. Suatu saat dapat dipalpasi massa tumor di rongga abdomen sebelah kanan (Tambunan, 1994).

Karsinoma usus besar kiri (*colon transversum* batas *flexura lienalis*, *colon descendens*, *sigmoid* dan *rectum*) tumbuh berbentuk cincin menimbulkan *napkin-ring*. Pada permulaan, tumor tampak seperti massa berbentuk sesil, kemudian tumbuh berbentuk plak melingkar yang menimbulkan obstipasi. Kemudian bagian tengah mengalami ulserasi yang menimbulkan simptom diare, tinja campur lendir dan darah, konstipasi dan tenesmus mirip dengan sindrom disentri (Tambunan, 1994).

2.1.8. Stadium

Prognosis dari pasien kanker *colon* berhubungan dengan dalamnya penetrasi tumor ke dinding *colon*, keterlibatan kelenjar getah bening regional atau metastasis jauh. Semua variabel ini digabung sehingga dapat ditentukan sistem *staging* yang awalnya diperhatikan oleh Dukes (Abdullah, 2007).

Stadium			Deskripsi histopatologi
Dukes	TNM	Derajat	
A	T1N0M0	I	Kanker terbatas pada mukosa/submukosa
B1	T2N0M0	II	Kanker mencapai muskularis
B2	T3N0M0	III	Kanker cenderung untuk masuk atau melewati lapisan serosa
C	TxN1M0	IV	Tumor melibatkan Kelenjar Getah Bening Regional
D	TxNxM1	V	Metastasis

Tabel 2.1 sistem *staging* kanker Dukes

Tumor (T) : mengacu pada tumor primer.

N (Nodes) : merupakan keterlibatan kelenjar getah bening regional dan dapat juga peringkat 0-4.

Metastasis : diwakili oleh huruf M; 0 jika tidak terjadi metastasis; 1 jika terjadi metastasis.

2.1.9 Diagnosis

1. Anamnesis yang teliti

Meliputi perubahan pola kebiasaan defekasi, baik berupa diare ataupun konstipasi, perdarahan per anus (darah segar), penurunan berat badan, faktor predisposisi (*risk factor*), riwayat kanker dalam keluarga, riwayat polip usus, riwayat *colitis ulserosa*, riwayat kanker payudara/ovarium, *uretero sigmoidostomi*, serta kebiasaan makan (rendah serat, banyak lemak) (Simadibrata, 1997).

2. Pemeriksaan Fisik

Gejala yang paling sering dikeluhkan adalah adanya perubahan pola buang air besar (*change of bowel habits*). Semakin distal letak tumor semakin jelas gejala yang ditimbulkan karena semakin ke distal feses semakin keras dan sulit dikeluarkan akibat lumen yang menyempit, bahkan bisa disertai nyeri dan perdarahan, bisa jelas atau samar. Warna perdarahan sangat bervariasi, merah terang, *purple*, merah kecoklatan, dan kadang kala merah kehitaman. Makin ke distal letak tumor warna merah makin pudar. Perdarahan sering disertai dengan lendir, kombinasi keduanya harus dicurigai adanya proses patologis pada *colorectal*. Selain itu, pemeriksaan fisik lainnya yaitu adanya massa yang teraba pada *fossa iliaca dextra* dan secara perlahan makin lama makin membesar. Penurunan berat badan sering terjadi pada fase lanjut, dan 5% kasus sudah metastasis jauh ke hepar (Corman, 2005).

3. Pemeriksaan laboratorium

Meliputi pemeriksaan tinja apakah ada darah secara makroskopis/mikroskopis atau ada darah samar (*occult blood*) serta pemeriksaan

CEA (*carcino embryonic antigen*). Kadar yang dianggap normal adalah 2,5-5 ngr/ml. Kadar CEA dapat meninggi pada tumor epitelial dan mesenkimal, emfisema paru, sirhosis hepatis, hepatitis, perlemakan hati, pankreatitis, *colitis ulserosa*, penyakit crohn, tukak peptik, serta pada orang sehat yang merokok. Peranan penting dari CEA adalah bila diagnosis karsinoma *colorectal* sudah ditegakkan dan ternyata CEA meninggi yang kemudian menurun setelah operasi maka CEA penting untuk tindak lanjut (Simadibrata, 1997).

4. *Double-contrast barium enema* (DCBE)

Pemeriksaan dengan barium enema dapat dilakukan dengan Single kontras procedure (barium saja) atau Double kontras procedure (udara dan barium). Kombinasi udara dan barium menghasilkan visualisasi mukosa yang lebih detail. Akan tetapi barium enema hanya bisa mendeteksi lesi yang signifikan (lebih dari 1 cm).⁴² DCBE memiliki spesifisitas untuk adenoma yang besar 96% dengan nilai prediksi negatif 98%. Metode ini kurang efektif untuk mendeteksi polips di *rectosigmoid-colon*. Angka kejadian perforasi pada DCBE 1/25.000 sedangkan pada Single Kontras Barium Enema (SCBE) 1/10.000 (Heiken, 2006).

5. *Flexible Sigmoidoscopy*

Flexible Sigmoidoscopy (FS) merupakan bagian dari endoskopi yang dapat dilakukan pada *rectum* dan bagian bawah dari *colon* sampai jarak 60 cm (sigmoid) tanpa dilakukan sedasi. Prosedur ini sekaligus dapat melakukan biopsi. Hasilnya terbukti dapat mengurangi mortalitas akibat karsinoma *colorectal* hingga 60%-80% dan memiliki sensitivitas yang hampir sama dengan *colonoscopy* 60%-70% untuk mendeteksi karsinoma *colorectal*. Walaupun jarang, FS juga mengandung resiko terjadinya perforasi 1/20.000 pemeriksaan.

Intepretasi hasil biopsi dapat menentukan apakah jaringan normal, prekarsinoma, atau jaringan karsinoma. *American Cancer Society* (ACS) merekomendasikan untuk dilakukan *colonoscopy* apabila ditemukan jaringan adenoma pada pemeriksaan FS. Sedangkan hasil yang negatif pada pemeriksaan FS, dilakukan pemeriksaan ulang setelah 5 tahun (Sari, 2010).

6. *Endoscopy* dan biopsi

Endoscopy dapat dikerjakan dengan rigid endoscope untuk kelainan-kelainan sampai 25 cm – 30 cm, dengan *fibrescope* untuk semua kelainan dari *rectum* sampai *caecum*. Biopsi diperlukan untuk menentukan secara patologis anatomis jenis tumor (Simadibrata, 1997).

7. *Colonoscopy*

Colonoscopy adalah prosedur dengan menggunakan tabung fleksibel yang panjang dengan tujuan memeriksa seluruh bagian *rectum* dan usus besar. *Colonoscopy* umumnya dianggap lebih akurat daripada barium enema, terutama dalam mendeteksi polip kecil. Jika ditemukan polip pada usus besar, maka biasanya diangkat dengan menggunakan *colonoscope* dan dikirim ke ahli patologi untuk kemudian diperiksa jenis kankernya (Lee, 2005).

8. Colok dubur

Pemeriksaan colok dubur dilakukan pada setiap penderita dengan tujuan untuk menentukan keutuhan spinkter ani, ukuran dan derajat fiksasi tumor pada *rectum* 1/3 tengah dan distal. Pada pemeriksaan colok dubur yang harus dinilai adalah pertama, keadaan tumor: ekstensi lesi pada dinding *rectum*. Kedua, mobilitas tumor untuk mengetahui prospek terapi pembedahan. Ketiga, ekstensi penjaran yang diukur dari ukuran tumor dan karakteristik pertumbuhan primer, mobilitas atau fiksasi lesi (Ghaib, 2009).

2.1.10 Pencegahan

1. Pencegahan primer

Pencegahan primer ialah usaha untuk mencegah timbulnya kanker dengan menghilangkan dan/atau melindungi tubuh dari kontak dengan karsinogen dan faktor-faktor lain yang dapat menimbulkan kanker. Beberapa cara yang dapat dilakukan dalam pencegahan primer kanker *colorectal* yaitu

- a. Menghentikan atau mengubah kebiasaan hidup yang memperbesar risiko terjadinya kanker *colorectal* seperti menghindari makan makanan yang tinggi lemak (khususnya lemak hewan) dan rendah kalsium, folat, mengonsumsi makanan berserat dengan jumlah cukup dan mengurangi konsumsi daging merah. Kebalikan dengan daging merah/daging olahan, konsumsi ikan dapat menurunkan risiko. Untuk mengurangi konsumsi daging merah, para ahli menganjurkan mengonsumsi daging unggas (ayam, bebek, dsb) dan ikan (Sukardja, 2000).
- b. Mengubah kebiasaan mengonsumsi alkohol karena selain merusak hepar, konsumsi minuman beralkohol juga berhubungan dengan peningkatan risiko kanker *colorectal* (sukardja, 2000).

2. Pencegahan Sekunder

Pencegahan sekunder dapat dilakukan dengan skrining. Strategi skrining pada orang yang tidak memperlihatkan gejala dianjurkan yaitu laki-laki dan perempuan berusia lebih dari 40 tahun harus menjalani pemeriksaan rektal digital (*rectal toucher*) setiap tahun dan orang yang berusia di atas 50 tahun harus menjalani pemeriksaan darah samar feses setiap tahun dan pemeriksaan sigmoidoskopi setiap 3 hingga 5 tahun setelah 2 kali pemeriksaan awal yang berjeda setahun. Orang yang beresiko tinggi karena memiliki riwayat keluarga

terkena kanker *colorectal* harus dipantau ketat dengan melakukan skrining teratur (Lindseth, 2006).

2.1.11 Pengobatan

1. Kemoprevensi

Obat *Antiinflamatori Nonsteroid* (OAIN) termasuk aspirin dianggap berhubungan dengan penurunan mortalitas kanker kolorektal. Beberapa OAIN seperti *sulindac* dan *celecoxib* telah terbukti secara efektif menurunkan insidens berulangnya adenoma pada pasien dengan FAP (*Familial Adenomatous Polyposis*). Data epidemiologi menunjukkan adanya penurunan risiko kanker dikalangan pemakai OAIN namun bukti yang mendukung manfaat pemberian aspirin dan OAIN lainnya untuk mencegah kanker kolorektal sporadik masih lemah (Abdullah, 2007).

2. Pembedahan

Tindakan yang paling sering dilakukan adalah hemikolektomi kanan, kolektomi transversal, hemikolektomi kiri atau reseksi anterior, dan reseksi abdominoperineal. Pembedahan sangat berhasil bila dilakukan pada pasien yang tidak mengalami metastasis. Pemeriksaan tindak lanjut dengan antigen embrionik adalah penanda yang sensitif untuk rekurensi tumor yang tidak terdeteksi. Daya tahan hidup 5 tahun adalah sekitar 50% (Lindseth, 2006).

Indikasi untuk hemikolektomi adalah tumor di *caecum*, *colon ascenden*, *colon transversum*, tetapi lesi di *fleksura lienalis* dan *colon descendens* di atasi dengan hemikolektomi kiri. Tumor di *sigmoid* dan *rectum proksimal* dapat diangkat dengan tindakan LAR (*Low Anterior Resection*). Angka mortalitas akibat operasi sekitar 5% tetapi bila operasi dikerjakan secara emergensi maka angka mortalitas menjadi lebih tinggi. Reseksi terhadap metastasis di hati dapat

memberikan hasil 25-35% rata-rata masa bebas tumor (disease free survival rate) (Abdullah, 2007).

3. Radiasi

Radiasi pra bedah hanya diberikan pada karsinoma rektum. Sementara itu, radiasi pasca bedah diberikan jika sel karsinoma telah menembus *tunika muscularis propria*, ada metastasis ke kelenjar limfe regional, atau apabila masih ada sisa-sisa sel karsinoma yang tertinggal akan tetapi belum ada metastasis jauh (Simadibrata, 1997).

4. Kemoterapi

Kemoterapi diberikan apabila ada metastasis ke kelenjar regional (Dukes C), tumor telah menembus muskularis propria (Dukes B), atau tumor setelah dioperasi kemudian residif kembali (Simadibrata, 1997).

Kemoterapi yang biasa diberikan pada penderita kanker kolorektal adalah kemoterapi ajuvan. Sepertiga pasien yang menjalani operasi kuratif akan mengalami rekurensi. Kemoterapi ajuvan dimaksudkan untuk menurunkan tingkat rekurensi kanker *colorectal* setelah operasi. Pasien Dukes A jarang mengalami rekurensi sehingga tidak perlu terapi ajuvan. Pasien kanker kolorektal Dukes C yang mendapat levamisol dan 5 FU secara signifikan meningkatkan harapan hidup dan masa interval bebas tumor (*disease free interval*). Kemoterapi ajuvan tidak berpengaruh pada kanker kolorektal Dukes B (Abdullah, 2007).

2.2 Azoxymetana (AOM) dan Dekstran Sulfate Sodium Salt (DSS) sebagai induksi *colitis-associated colon cancer*.

AOM adalah suatu karsinogen genotoksik kolon yang digunakan untuk menginvestigasi karsinogenesis pada hewan rodensia. DSS merupakan karsinogen polisakarida sulfat sintesis yang menyebabkan inflamasi usus

(*ulcerative colitis*) pada hewan rodensia (Suzuki *et al.* 2006). *azoksimetana* (AOM) merupakan karsinogen eksogen yang mengalami proses detoksifikasi di hati oleh enzim-enzim mikrosomal. Tahap pertama merupakan aktivasi, yaitu mengkondisikan xenobiotik agar bersifat lebih mudah larut dalam sirkulasi darah sehingga mudah diberi perlakuan pada tahap selanjutnya. Sedangkan pada tahap kedua yaitu tahap konjugasi yang membuat xenobiotik tersebut dapat diekskresikan (Levi 2000). Karsinogen *azoximetane* (AOM), dan *dekstran sulfate sodium salt* (DSS) banyak dipakai untuk menghasilkan kanker kolorektal sporadik. Strain mencit yang ditemukan sensitif terhadap karsinogenesis kolon yang diinduksi AOM/DSS yaitu BALB/c, C3H/Hen, C57BL dan DBA/2N. Pengujian sensitivitas AOM/DSS terhadap beberapa strain mencit dilaporkan oleh Suzuki *et al.* (2006).

2.3 Respon imun terhadap kanker kolon

2.3.1 Imunitas humoral

Pada karsinoma kolorektal respon imun seluler lebih dominan dibandingkan dengan imunitas humoral, tetapi tubuh juga membentuk antibodi terhadap antigen tumor. Antibodi tersebut ternyata dapat menghancurkan sel tumor secara langsung, dengan bantuan komplemen, dengan melalui jalur *antibody dependent cell cytotoxicity* (ADCC) yang memiliki reseptor misalnya sel NK dan makrofag atau dengan jalan mencegah adhesi sel tumor. Pada penderita karsinoma kolorektal sering ditemukan kompleks immune, tetapi pada kebanyakan tumor sifatnya masih belum jelas. Antibodi diduga lebih berguna terhadap sel yang bebas seperti pada metastase dibanding pada tumor yang padat. Hal tersebut mungkin disebabkan karena antibodi membentuk kompleks imun yang mencegah sitotoksitas sel T. pada umumnya destruksi lebih

efisien bila sel tumor ada dalam suspensi dan destruksi tumor dengan cara ini sulit dibuktikan pada tumor yang padat (Warsinggih, *et al*, 2011).

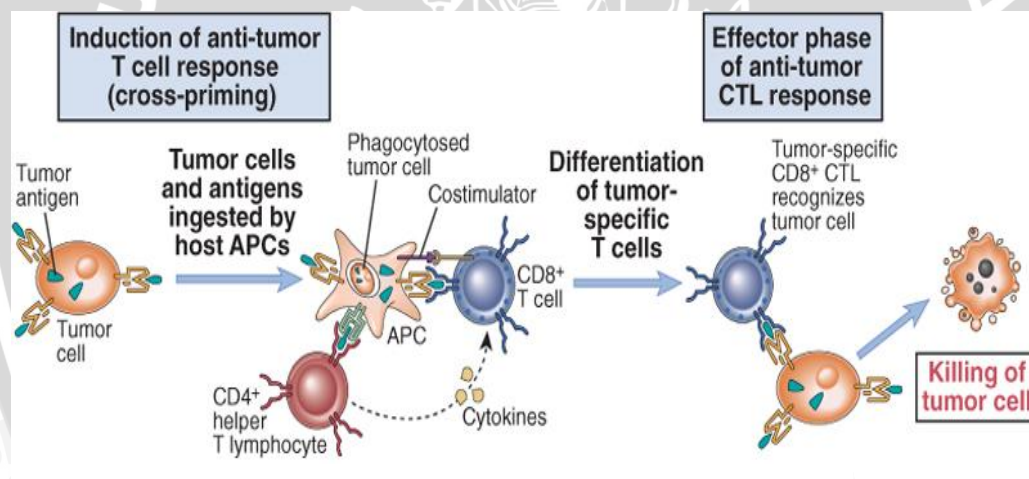
2.3.2. imunitas seluler

Pada pemeriksaan patologi anatomi karsinoma kolorektal sering ditemukan infiltrasi sel sel yang terdiri atas sel sel fagosit mononuclear, limposit, sedikit sel plasma dan sel mast. Meskipun pada beberapa neoplasma infiltrasi sel mononuclear merupakan indicator untuki prognosis yang baik, tetapi pada umumnya tidak ada hubungan antara infiltrasi sel dengan prognosis. Sistem ini dapat langsung menghancurkan sel tumor tanpa sensitasi sebelumnya (Baratawijaya, 2009).

Limfosit yang sudah matang akan mengenal TAA (*tumor-associated antigen*) dalam tumor meskipun TAA merupakan self protein dari gen normal. Ini karena jumlah TAA pada pasien tumor mengalami peningkatan. Bila sel B dan sel T menjadi matang dalam sumsum tulang dan timus, limfosit yang terpajan dan berikatan dengan sel antigen tidak diekspresikan dalam sumsum tulang atau timus oleh karena deletion sentral tidak lengkap dan limposit sel reaktif yang mengenal antigen tidak diekspresikan dalam sumsum tulang atau timus. Diduga limposit tidak memberikan respon terhadap self antigen dengan kadar yang diekspresikan pada keadaan normal (Warsinggih, *et al*, 2011).

Pada imunitas seluler yang berperan adalah CTL, sel NK, dan makrofag. karsinoma kolorektal mengekspresikan antigen unik yang dapat memacu proliferasi CTL spesifik yang dapat menghancurkan tumor. CTL biasanya mengenal peptide asal TSA (*tumor specific antigen*) yang diikat MHC-1. Namun, CTL tidak selalu efisien. Sel NK adalah limfosit sitotoksik yang mengenal sel sasaran yang bukan antigen spesifik juga bukan MHC dependent. Diduga bahwa

fungsi terpenting sel NK adalah anti tumor. Sel NK mengekspresikan FeR dapat mengikat sel tumor yang terlebih dulu berikatan dengan antibody dan dapat membunuh sel sasaran melalui ADCC dengan cara melepas protease, perforin dan granzim.(Baratawijaya, 2009). Makrofag memiliki enzim dengan fungsi sitotoksik dan melepas mediator oksidatif seperti superoksid dan oksida nitrit. Makrofag juga melepas TNF-alfa yang mengawali apoptosis. Diduga makrofag mengenal sel tumor melalui IgG-R yang mengikat antigen tumor. Makrofag dapat memakan dan mencerna sel tumor dan mempresentasikan ke sel efektor CD4. Dalam hal ini makrofag berfungsi sebagai inisiator dan efektor immune terhadap tumor (Warsinggih, *et al*, 2011).



Gambar 2.2. Induksi sel T untuk merespon tumor (Abbas *et al*, 2007).

2.4 Transforming growth factor- β

Transforming growth factor β (TGF- β) adalah protein yang disekresikan untuk mengatur proliferasi, diferensiasi dan kematian dari berbagai jenis sel. Semua jenis sel imun, termasuk sel B, sel T dan sel dendritik serta makrofag, mensekresi TGF- β yang mengatur proliferasi, diferensiasi dan aktivasi oleh

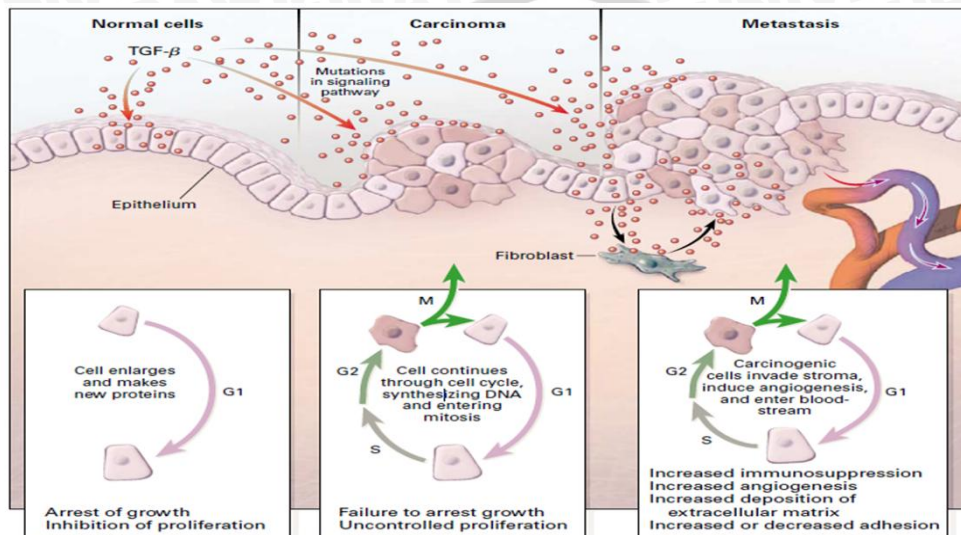
sitokin lain. TGF- β adalah immunosuppressor utama yang berhubungan dengan autoimun, peradangan dan kanker (Rifa'i, 2009).

TGF- β diekspresikan sebagai protein perintis/pemula oleh $\pm$ 390 asam amino, yang kemudian diproses oleh enzim protease, sehingga menjadi protein yang matang/ mature. Di samping TGF- β berfungsi sebagai anti proliferasi, pada beberapa sel, TGF- β juga dapat berfungsi menghambat produksi limfokin dan monokin, serta menghambat pula ekspresi seluler dari MHC kelas II dan reseptor IL-1. Sedangkan pada kadar yang rendah TGF- β akan menghambat efek proliferasi dari IL-2 pada sel limfosit T dan sel limfosit B (Soeroso, 2007). efek antiinflamasi TGF- β mencakup deaktivasi dalam produksi makrofag dari oksigen reaktif dan *nitrogen intermediates* serta menghambat proliferasi sel T, menghambat fungsi sel NK dan limfosit T sitotoksik juga menghambat regulasi IFN-gamma, TNF-alfa, dan pengeluaran IL-1 (Condos *et al*, 2004).

2.5 Peran TGF- β Pada Tumor.

Pada sel normal TGF- β bekerja secara simultan pada signalling pathway, menghentikan siklus sel pada fase G1 dengan menstimulasi produksi dari *cyclin-dependent protein kinase inhibitor* p15 dan dengan menginhibisi fungsi atau produksi dari regulator siklus sel dasar, terutama *cyclin-dependent protein kinase 2* dan 4 dan *cyclins* A dan E untuk menghambat proliferasi, menstimulasi diferensiasi sel, atau memulai apoptosis sel. Selama perubahan sel normal menjadi sel kanker beberapa komponen *signaling pathway* dari TGF- β termutasi, membuat sel tersebut resisten terhadap efek dari TGF- β . Sel kanker yang resisten terhadap TGF- β ini berproliferasi secara tidak terkontrol. Sel stromal (fibroblast) yang ada disekitar sel kanker juga terkena efek tersebut sehingga ekspresi TGF- β meningkat. Kadar TGF- β yang meningkat bekerja pada

stromal sel sekitar, sel sel imun, di endothelial sel, dan sel otot polos. Mengakibatkan terjadinya supresi sistem imun, angiogenesis, dan menyebabkan tumor semakin invasif (Blobe et al, 2000).



Gambar 2.3. Pada sel yang telah rusak, beberapa signaling pathway TGF- β termutasi, sehingga sel resisten terhadap efek TGF- β mengakibatkan sel berproliferasi secara tidak terkontrol (Blobe et al, 2000)

2.6 Benalu mangga (*dendrophthoe pentandra*)

2.6.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Santales</i>
Famili	: Loranthaceae
Genus	: Dendrophthoe
Spesies	: <i>Dendrophthoe pentandra</i> (L). Miq. (Van Steenis, 1975).

2.6.2 Nama daerah

Setiap daerah memiliki sebutan yang berbeda-beda untuk tanaman ini. Di daerah Jawa, tanaman ini biasanya dikenal dengan nama Kamadean atau Kemlandean, sedangkan di Sunda dikenal sebagai Mangendeuy. Akan tetapi, kebanyakan masyarakat Indonesia menyebutnya tanaman benalu.

2.6.3 Kandungan

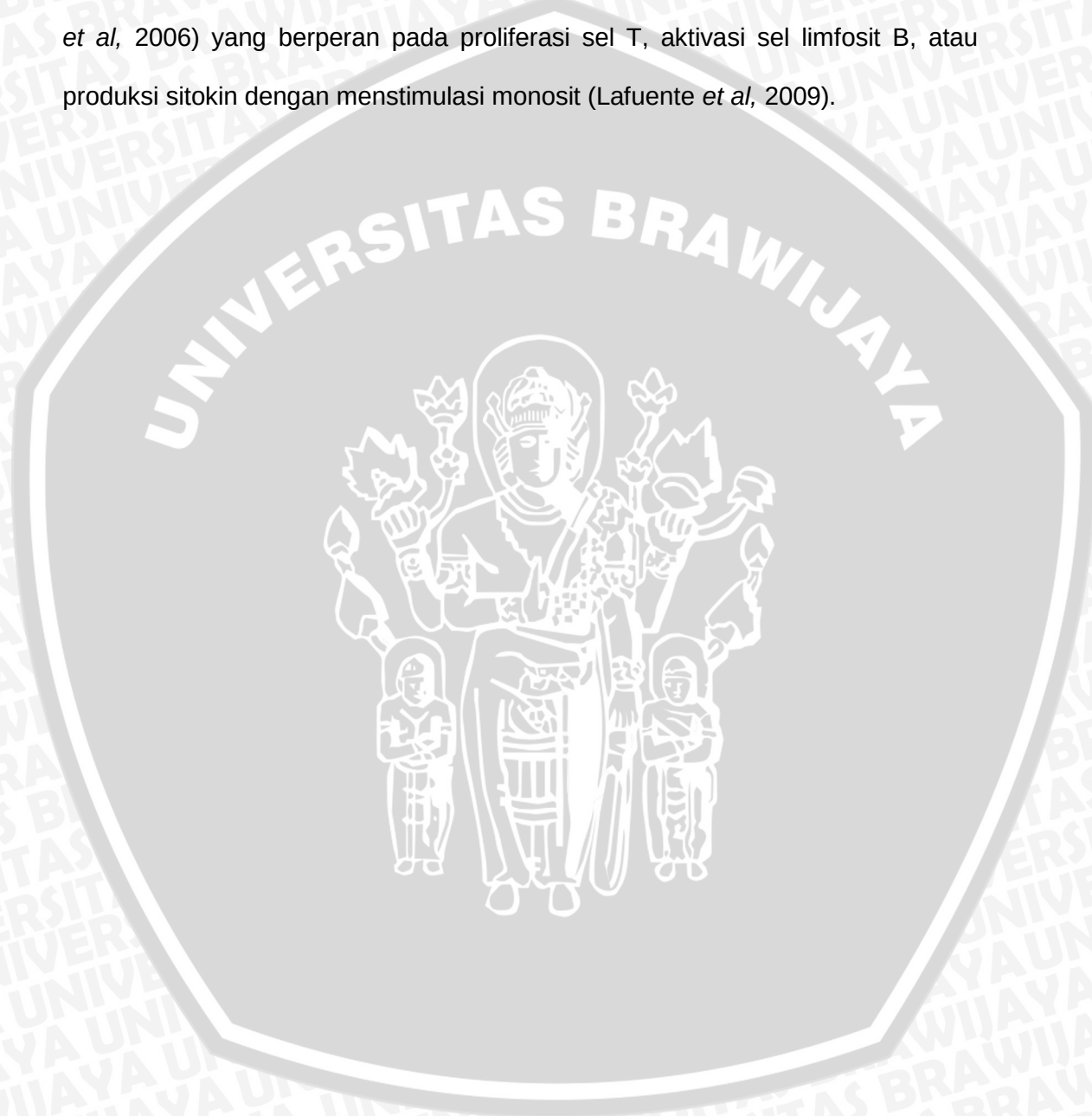
Daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) mengandung flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid dan saponin (Ikawati *et al*, 2004). Diduga senyawa yang dapat digunakan sebagai terapi pencegahan kanker kolon adalah senyawa flavonoid, yaitu kuersetin dan kaempferol (Sukpondma *et al*, 2000).

2.6.4 Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam tanaman. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C6) terikat pada suatu rantai propane (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6 (Waji *et al*, 2009).

Flavonoid yang memiliki peran penting dalam mencegah proses terjadinya peradangan yaitu kuersetin dan kaempferol. Kerja kuersetin yaitu melalui penghambatan PLA2 (Phospholipase A2) yang berfungsi sebagai stimulator pelepasan asam arakhidonat oleh phospholipid membrane sel, sehingga menghambat kerja siklooksigenase. Dengan terhambatnya jalur siklooksigenase sintesis prostaglandin yang merupakan mediator utama

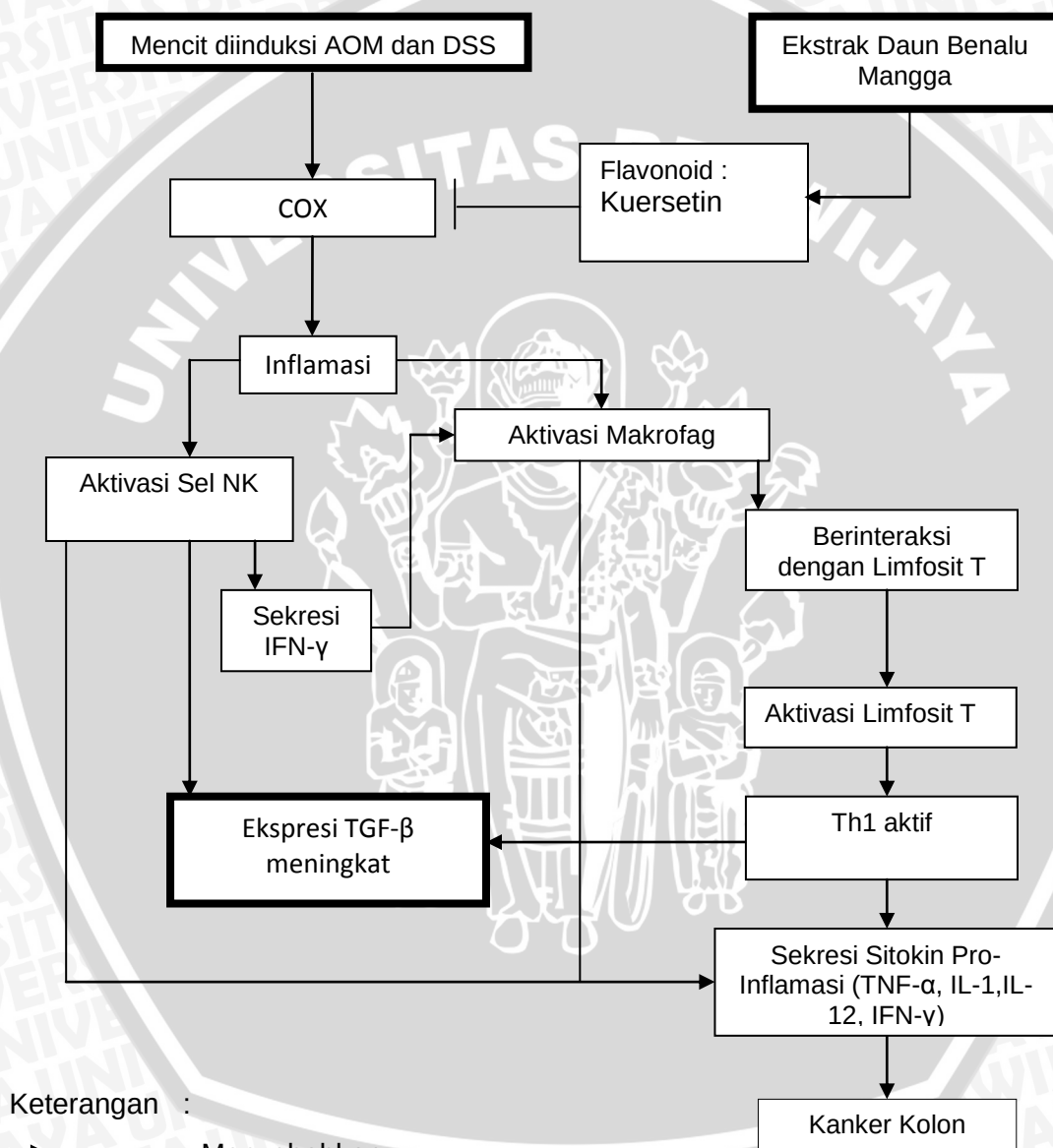
inflamasi terhambat (Middleton, 2000). Selain itu kuersetin dan kaempferol yang terkandung dalam daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) menunjukkan efek yang mungkin berhubungan dengan inhibisi enzim tirosin kinase (Comalada *et al*, 2006) yang berperan pada proliferasi sel T, aktivasi sel limfosit B, atau produksi sitokin dengan menstimulasi monosit (Lafuente *et al*, 2009).



BAB 3

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

- : Menyebabkan
- : Tidak diteliti
- ◻ : Diteliti
- | : Menghambat

Keterangan :

Kolon yang terpapar bahan iritan, akan menyebabkan fosfolipid membran sel melepaskan asam arakhidonat, kemudian asam arakhidonat di metabolisme melalui jalur siklooksigenase (COX) menghasilkan prostaglandin maka akan terjadi proses inflamasi pada kolon. Sel Natural Killer (NK) akan teraktifasi melalui sistem imunitas mukosa kolon, aktifasi NK sel mensekresikan TNF- α dan IFN- γ , dimana IFN- γ akan mengaktifasi makrofag dan TNF- α yang merupakan sitokin proinflamasi akan meningkatkan respon inflamasi pada kolon tersebut.

Makrofag yang teraktifasi juga mensekresikan TNF- α dan sebagai APC (*antigen presenting cell*) mengaktifasi limfosit T. Selanjutnya limfosit T akan berdiferensiasi menjadi T-helper 1. T-helper 1 memiliki fungsi yang sangat penting dalam inflamasi. Dengan aktifnya T-helper 1 akan memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi yang membantu meningkatkan respon inflamasi pada kolitis. NK sel, makrofag dan limfosit T juga mensekresikan TGF- β yang memiliki efek supresi sel-sel imun mencakup deaktivasi dalam produksi makrofag dari oksigen reaktif dan *nitrogen intermediates* serta menghambat proliferasi sel T, menghambat fungsi sel NK dan limfosit T sitotoksik juga menghambat regulasi IFN- γ dan TNF- α .

Pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) yang mengandung flavonoid kuersetin yang bekerja melalui penghambatan enzim PLA2 (Phospholipase A2) yang berfungsi sebagai stimulator pelepasan asam arakhidonat oleh phospholipid membrane sel, sehingga menghambat kerja siklooksigenase. Dengan terhambatnya jalur siklooksigenase sintesis prostaglandin yang merupakan mediator utama inflamasi terhambat.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada mencit Balb/c yang dibuat model *colitis-associated colon cancer*.



BAB 4**METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan beberapa kelompok perlakuan. Penelitian ini menggunakan mencit balb/c dewasa yang dibuat model colitis-associated colon cancer dengan induksi AOM (azoxymethane) dan DSS (dextran sulfat sodium).

4.2 Sampel Penelitian

Sebagai sampel penelitian digunakan 20 ekor mencit Balb/c jantan umur 8-10 minggu, berat antara 20-25 gram yang diperoleh dari PUSVETMA Surabaya yang diadaptasikan selama 1 minggu di Laboratorium Parasitologi FKUB sebelum perlakuan. Selanjutnya dilakukan screening dengan kriteria sbb:

Kriteria Inklusi:

- a) Mencit Balb/c dewasa dan sehat.
- b) Jantan, umur 8-10 minggu.
- c) Berat antara 20-25 gram.

Kriteria eksklusi

- a) Mencit Balb/c sakit.
- b) Mencit Balb/c terdapat cacat anatomis

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan, yang terdiri dari kelompok yang diberi 10mg/KgBB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt

(DSS) (kontrol positif), Kelompok yang diberi 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) dan diberi ekstrak etanol daun benalu mangga 125mg/KgBB, kelompok yang diberi 10mg/KgBB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) dan diberi ekstrak etanol daun benalu mangga 250mg/KgBB, Kelompok yang diberi 10mg/KgBB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) dan diberi ekstrak etanol daun benalu mangga 500mg/KgBB, dan kelompok normal (kontrol negatif). maka pengulangannya adalah:

$$P(n-1) \geq 16$$

$$5(n-1) \geq 16$$

$$5n \geq 22$$

$$n \geq 4$$

Maka jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap kelompok perlakuan minimal adalah 4

4.3 Identifikasi Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*).

4.3.2 Variabel Tergantung (*Dependent*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah ekspresi TGF- β pada mencit Balb/c model colitis-associated colon cancer.

4.3.3 Definisi Operasional Variabel

1. Model colitis-associated colon cancer dibuat dengan cara induksi DSS dan AOM. Untuk meningkatkan terjadinya kanker kolon pada mencit

dengan DSS, kejadian kanker kolon mendekati 100% dengan pemberian tambahan AOM dalam induksi (Papivanova, 2008)

2. Daun Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) diambil dari perkebunan di Probolinggo, daun benalu mangga dipilih yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda.
3. Ekspresi TGF- β adalah hasil amplifikasi PCR menggunakan primer TGF- β terhadap B-actin yang divisualisasikan pada 1,5% agarose (Endharti, 2011) dan dianalisis dengan *image photoshop*.

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan Ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) yang didapat dari perkebunan di Probolinggo yang kemudian diekstraksi di materia medika Kota Batu. Kemudian dibuat 3 macam konsentrasi yang akan digunakan sebagai variabel bebas.

Proses Ekstraksi daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*)

A. Proses Maserasi

1. Serbuk halus daun benalu mangga ditimbang sebanyak 100 gram (sampel kering).
2. Masukkan ke dalam gelas *Erlenmeyer* ukuran $\pm$ 1L.
3. Kemudian rendam dengan etanol sampai volume 1000 mL.
4. Kocok sampai benar-benar tercampur ($\pm$ 30 menit).
5. Diamkan 1 malam sampai mengendap.
6. Ambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring).

7. Lakukan proses perendaman ini sampai 3 kali.

B. Proses Evaporasi

1. Masukkan hasil penyaringan dalam labu evaporasi 1 L.
2. Pasang labu evaporasi pada evaporator dan Isi water bath dengan air.
3. Pasang semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (atur sampai 90°C atau sesuai dengan Titik Didih pelarut), sambungkan dengan aliran listrik.
4. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi.
5. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung ($\pm$ 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu) $\pm$ 900 mL.
6. Masukkan hasil ekstraksi ke dalam botol plastik/kaca.
7. Kemudian simpan dalam freezer.

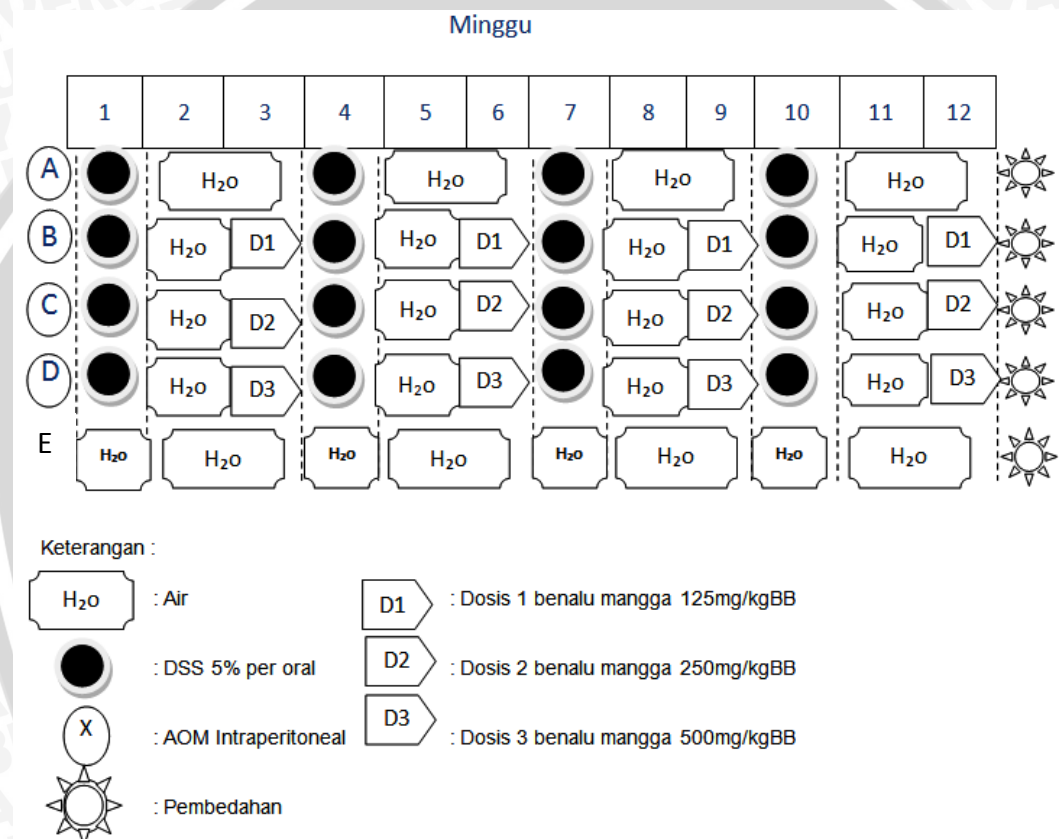
4.4.2 Instrumen Penelitian

1. Timbangan untuk menimbang mencit Balb/c
2. Persiapan mencit Balb/c model colitis-associated colon cancer dengan induksi AOM (azoxymethane) dan DSS (dextran sodium sulfat salt).
3. Pemberian ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*)
4. Instrumen pembedahan mencit Balb/c guna pengambilan kolon yang telah dibuat model colitis-associated colon cancer.
5. Instrumen untuk isolasi mRNA
6. Instrumen untuk pemeriksaan variabel tergantung dengan PCR guna melihat ekspresi TGF- β

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Lab. Parasitologi dan Lab. Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan September sampai Desember 2012.

4.6 Pengelompokkan Subyek Penelitian



Gambar 4.1 Pengelompokkan Subyek Penelitian

Keterangan :

Kelompok A, B, C, dan D diberi 10mg/Kg BB AOM (Azoxymethane) secara intra-peritoneal pada hari ke-1 (minggu ke-0) dan 5% DSS (Dextran Sulfate Sodium Salt) diberikan per oral di dalam air minum pada minggu ke 1, 4, 7, dan 10 masing-masing selama seminggu, Sedangkan kelompok E hanya diberi aquades. Kemudian pada kelompok B, C, dan D diberikan ekstrak daun

benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan sonde selama penelitian dengan dosis 125mg/KgBB pada kelompok B, 250mg/KgBB pada kelompok C, dan 500mg/KgBB pada kelompok D. Pada minggu ke-12 dilakukan pembedahan.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Ekstrak etanol Daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*)

Daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) didapat di perkebunan Probolinggo, diambil yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua kemudian dikeringkan dan dilakukan proses ekstraksi di materia medika Batu dengan metode maserasi dan evaporasi dengan pelarut alkohol 96%.

4.7.2 Preparasi Hewan Coba

Preparasi hewan coba dilakukan selama 1 minggu untuk aklimatisasi di laboratorium. Disiapkan 30 mencit Balb/c untuk melakukan penelitian ini. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok masing-masing terdiri dari 5 mencit.

4.7.3 Pembuatan Model *Colitis-associated colon cancer* menurut Papivanova, 2008

Mencit Balb/c diberi *Azoxymethane* (AOM) secara intraperitoneal pada hari pertama kemudian mencit diberikan *Dextran Sulfate Sodium Salt* (DSS) 5% (MW=40.000, ICN Biomedicals Inc., CA, USA) pada minggu ke-2 dan minggu ke-6 melalui air minum masing-masing dalam 1 minggu. Berat mencit diukur setiap minggu. Pada minggu ke enam diperiksa *fecal blood* dan SAA (serum amyloid A) sebagai tanda terjadi inflamasi pada kolon mencit. Pada akhir percobaan mencit dikorbankan dengan dislokasi servikal secara cepat sehingga tidak menimbulkan rasa sakit yang berkepanjangan.

Pertumbuhan kanker ditandai dengan terjadinya penebalan dan atau pengerasan dinding kolon yang cenderung berbentuk anuler dan infiltratif ke seluruh dinding kolon sehingga sulit menilai ukuran tumor secara individu. Oleh karenanya ukuran pertumbuhan kanker berdasarkan pada persentase panjang usus yang tumbuh kanker yang dibuktikan secara patologi anatomi. Jaringan histopatologik diproses dalam blok parafin, dipotong setebal 4 mikron dan diberi pengecatan HE untuk pemeriksaan infiltrasi limfosit, MoAb anti perforin untuk menghitung ekspresi perforin, identifikasi sel apoptotik sesuai metode TUNEL dan perak nitrat AgNORs untuk pemeriksaan proliferasi sel (Sawitri, 2012).

4.7.4 Isolasi Jaringan Kolon Mencit

1. Alat

Gunting Kecil, Pinset, Mikro pipet, Blue tape, Yellow tape, Eppendorf, Penggaris, Timbangan analitik, Culture plate, Spidol, Sarung tangan, Masker

2. Bahan

Mencit yang sudah diinduksi *colitis-associated colon cancer*, Eter, Tri Reagent, PBS

3. Cara Kerja

- a. Pada minggu ke-12, mencit yang sudah diinduksi kolitis dibunuh menggunakan eter.
- b. Mencit dibaringkan pada stereoform yang dilapisi alumunium dan disemprot dengan alkohol.
- c. Mencit dibedah menggunakan gunting dimulai dengan menggunting bagian abdomennya.
- d. Bagian kolon (*ascendens*, *transversal* dan *descenden*) diambil.

- e. Membebaskan kolon dari feses, mengukur panjang dan menimbang berat masing-masing kolon.
- f. Memotong kolon descendens sepanjang 1cm sebagai sampel dan meletakkan pada masing-masing *culture plate* yang sudah dilabeli.
- g. Organ kolon ditetesi PBS menggunakan mikro pipet untuk membersihkan organ tersebut dari darah.
- h. kolon digunting halus.

4.7.5 Isolasi RNA menurut Persaud (2006)

1. Homogenisasi

Homogenasi sampel jaringan kolon pada 400 ml TRI REAGEN

2. Fase separasi (homogenate + choloform)

Jaringan sampel yang sudah di campur larutan TRI-REAGENT dipindah ke cawan petri kemudian dihaluskan. Pindah lagi ke dalam tube kemudian ditambahkan 80 ml chloroform dalam 400 ml TRI REAGEN, tutup sampel rapat-rapat dan kocok secara dinamis selama 15 detik. Simpan hasil pencampuran pada temperatur ruangan selama 2-15 menit dan sentrifugasi pada kecepatan 12.000 g selama 15 menit dengan suhu 4°C. hasil sentrifugasi didapatkan bagian bawah eppendorf yaitu fase phenol-chloroform, interphase, dan bagian atas adalah fase aqueous, kemudian memindahkan bagian aqueous pada tabung eppendorf baru.

3. Presipitasi RNA (fase aqueous + isopropanol)

Menambahkan isopropanol 200 ml kemudian disimpan pada temperatur ruangan selama 5-10 menit dan sentrifugasi pada kecepatan 12.000 g selama 8 menit dengan suhu 4-25°C. RNA

presipitasi (sering tak terlihat sebelum sentrifugasi) berbentuk seperti gel atau pellet putih di bagian samping dan bawah tabung eppendorf.

4. Pencucian RNA

Buang supernatant dan bilas RNA-pellet dengan 400 ml ethanol 75% dan sentrifugasi dengan kecepatan 7500 g selama 5 menit pada suhu 4-25°C.

5. Solubilisasi RNA (DEPC water)

Buang ethanol dan RNA-pellet diangin-anginkan selama 3-5 menit kemudian ditambahkan 20 ml *free water*.

4.7.6 Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction (RT PCR) sesuai dengan Promega

Protokol :

1. Campur 0,5-1 µg total RNA dan 100pmol primer (5µl)((dN)₉ .
2. Denaturasi campuran di suhu 70°C selama 5 menit, dan diinkubasi dalam es, lalu tambahkan campuran berikut:

Reagen	Volume
RT Reaction Buffer (5X)	2 µl
dNTPs (10mM each)	0.5 µl
Ribonuclease Inhibitor (40 U/µl)	0.125 µl
DTT (100mM)	1 µl
M-MLV Reverse Transcriptase (200U/µl)	0.25 µl
DEPC-treated water	Up to 10 µl

Tabel 4.1 Bahan RT PCR

3. Campur larutan dan sentrifugasi secara singkat, lalu dinkubasi selama 1 jam pada suhu yang sesuai.
4. Menghentikan reaksi dengan inkubasi pada 94°C selama 5 menit dan dinginkan tabung di atas es.

5. Sintesis cDNA menggunakan sistem ini dapat digunakan secara langsung pada amplifikasi PCR.

4.7.7 Prosedur Kerja PCR menurut Elliott *et al.*, (2003)

1. Bersihkan tempat kerja dengan ethanol 70%
2. Siapkan sarung tangan, pipet tips, eppendorf tubes steril pada tempat bersih (seringlah mengganti sarung tangan)
3. Siapkan Promega amplification kit dari -20 kemudian thawing pada RT
4. Labeli 200 μ L PCR tube sesuai jumlah sampel
5. Penyiapan reagen PCR mix reaksi

Ikutilah prosedur pada tabel dibawah ini

Prosedur reaksi PCR

No.	Mix Reaksi PCR	Reaksi
1.	Go taq master mix 2x	4,2 μ L
2.	Primer forward 0,25-2,5 μ L	0,2 μ L
3.	Primer reversa 0,25-2,5 μ L	0,2 μ L
4.	Control DNA/sample DNA 1-5 μ L	1 μ L
5.	Nuclease free water	2,4 μ L
Total		8 μ L

Tabel 4.2 Mix Reaksi (promega kit)

6. a. Siapkan/masukkan 6,943 μ L Mix reaksi PCR untuk promega kit tanpa sampel DNA kedalam masing tube eppendorf (v 200 μ L) sampel yang telah disiapkan (no. 5)

- b. Siapkan/masukkan 6,6 μL Mix reaksi PCR untuk promega kit tanpa sampel DNA dan primer kedalam masing tube eppendorf (v 200 μL) sampel yang telah disiapkan (no. 5)
7. a. Pipetlah 0,2 μL DNA template atau DNA Sampel untuk promega kit
b. Pipetlah 1 μL DNA template atau DNA Sampel dan 0,2 μL primer baik forward dan revers untuk promega kit
8. Campurlah dengan mix reaksi PCR yang sudah siap dalam tube eppendorf dengan cara dipipeting (jangan divortex) kemudian spin down
9. Bawalah tube pada mesin PCR dan gunakan mengikuti kondisi siklus pada tabel 4.3

PCR Cycle step	Temperature	Time (minutes)	Number of cycle
Initial denaturation	95 °C	2	1
Denaturation	95°C	30 sec	40
Anneling	60°C	60 sec	
Extention	74 °C	60 sec	
Final extention	74 °C	5	1
Hold	12 °C	Indefinitely	1

Tabel 4.3 cycling condition PCR (promega kit)

10. Setelah proses PCR sampel bisa disimpan dalam 4°C, atau langsung di elektroforesis Horisontal.

4.7.8 Prosedur Elektroforesis Horisontal

1. Siapkan 10 x TAE stok
10 x TAE stok
 - 4,84 g Tris base
 - 1,14 mL asam 57omogen
 - 0,37224 g EDTA
 - Add dH₂O ~100 mL

Adjust PH 8

Adjust PH 8

2. Siapkan 1 X TAE (disiapkan dari 10X stok)
Artinya untuk 1 mL dari 10x stok, harus ditambah 9 mL dari dH₂O
3. Tambahkan 0,6 g agarose gel sampai volume akhir 40 mL (untuk membuat agarose dengan konsentrasi 1,5%)
4. Panaskan larutan sampai mendidih untuk melarutkan agarose atau dalam microwave
5. Tambahkan 1 μ L etidium bromide dalam campuran agarose, dikocok supaya homogen
6. Ditunggu sampai hangat/suam-suam kuku, baru tuangkan agarose pada plate sampai dingin kira-kira 20 menit.
Penyiapan plate untuk membuat agarose:
 - Dipasang sumuran
 - Baru dituang agarosenya
7. Setelah agarose jadi, hati-hati mengambil sumurannya baru pasang agarose pada alat running
8. Tambahkan TAE sampai menggenangi gel
9. Letakkan sumuran pada gel agarose dekat anoda (-) biasanya warna hitam, karena arus listriknya mengalir dari anoda (negative) ke katoda (positif)
10. Marker VC 100vb plus dan loading dye harus segera di aliquot, 10 μ L untuk marker VC 100vb plus dan 20 μ L loading dye untuk pada beberapa endpoint, labelah dan segera disimpan dalam -20°C
11. Ambillah 3 μ L marker/sampel hasil PCR ditambah 2 μ L Loading buffer proses penambahannya:

- loading dye diletakkan pada parafilm (disiapkan sejumlah sampel ditambah 1 untuk marker)
- sampel hasil PCR ditambahkan pada loading dye diatas parafilm tersebut
- Dihomogenkan dengan cara dipipeting

12. Dengan hati-hati tempatkan sampel kedalam sumuran menggunakan pipet.

13. Elektroforesis sampel pada 50V untuk 60 menit.

11. Dengan menggunakan sarung tangan, hati-hatilah mengambil gel dari box, letakkan kedalam box UV dan ambilah gambarnya.

4.7.9 Ekpresi TGF- β

Total RNA diekstraksi dari jaringan kolon menggunakan trizol (gibcol, USA). Reaksi cDNA dilakukan dengan superscript reverse trascriptase-II (invitrogen). Aplikasi PCR dilakukan pada 25-40 siklus menggunakan kondisi sebagai berikut : denaturasi, 30 detik di 95°C, annealing 1 menit pada suhu 60°C, ekstensi 1 menit pada suhu 74°C. Produk PCR dielektroforesis 1,5% gel agarose yang mengandung 0,5 μ g / ml dan ethidium bromida. Selanjutnya gel agarose divisualisasikan di bawah sinar UV. Primer yang digunakan adalah sbb:

Gene	Forward Primer	Reverse Primer
TGF- β	CCTCCCCCATGCCGCCCTCG	CCAGGAATTGTTGCTATATTT CTG
B-actin	TGGAATCCTGTGGCATCCATG AAAC	TAAACGCAGCTCAGTAACAG TCCG

Tabel 4.4 Ekspresi TGF- β

4.8 Pengelolaan dan analisi data

Dilakukan uji normalitas data dan homogenitas varian, uji kruskal wallis dan post hoc test serta uji korelasi dengan menggunakan aplikasi SPSS Statistics 17.0



BAB 5

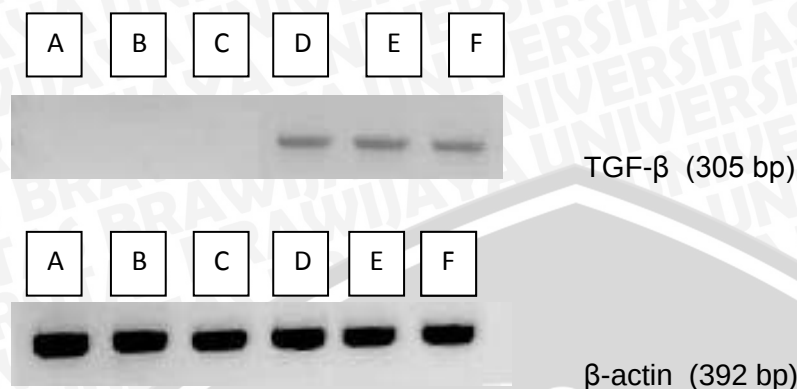
HASIL PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang terdiri dari 5 kelompok. Kelompok A, B, C, dan D diberi 10mg/Kg BB AOM (Azoxymethane) secara intra-peritoneal pada hari ke-1 (minggu ke-0) dan 5% DSS (*Dextran Sulfate Sodium Salt*) diberikan per oral di dalam air minum pada minggu ke 1, 4, 7, dan 10 masing-masing selama seminggu, Sedangkan kelompok E hanya diberi aquades. Kemudian pada kelompok B, C, dan D diberikan ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan sonde selama penelitian dengan dosis 125mg/KgBB pada kelompok B, 250mg/KgBB pada kelompok C, dan 500mg/KgBB pada kelompok D. Pada minggu ke-12 dilakukan pembedahan. Masing-masing kelompok terdiri dari empat sampel mencit model *colitis-associated colon cancer*. Pada minggu ke-12 setelah perlakuan, setiap mencit dari masing-masing kelompok dimatikan dan dibedah untuk mengamati ekspresi TGF- β kolon mencit model *colitis-associated colon cancer* dengan menggunakan PCR.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekspresi TGF- β

Hasil PCR ekspresi TGF- β dan β -actin pada setiap perlakuan dan 4 pengulangan dianalisis tebal dan tipisnya dengan program Photoshop untuk mendapatkan nilai dari ekspresi tersebut secara kuantitatif sehingga dapat di analisis dengan uji statistik Kruskal Wallis.



Gambar 5.1 Ekspresi TGF- β (atas) dan β -actin (bawah) representasi di empat kali ulangan dengan hasil yang sama

Kelompok perlakuan	Pengulangan				Mean	SD
	1	2	3	4		
A	0.30	0.28	0.24	0.29	0.28	0.03
B	0.29	0.29	0.31	0.31	0.30	0.01
C	0.26	0.24	0.25	0.27	0.25	0.01
D	0.94	0.94	0.98	0.89	0.94	0.03
E	1.00	1.00	1.00	0.92	0.98	0.04

Tabel 5.1 Rata-rata ekspresi TGF- β dan β -actin

Keterangan :

A : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) (kontrol positif).

B : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) + ekstrak daun benalu mangga 125mg/KgBB.

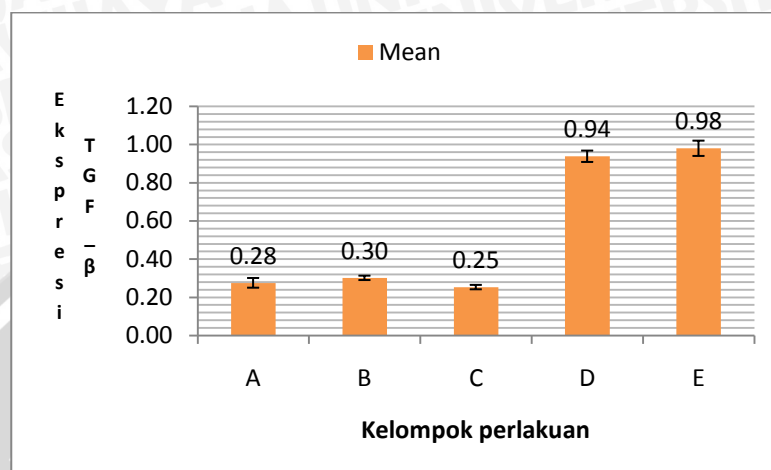
C : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) + ekstrak daun benalu mangga 250mg/KgBB.

D : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) + ekstrak daun benalu mangga 500mg/KgBB.

E : Normal (kontrol negatif).

Pada tabel diatas menunjukkan kelompok perlakuan dan hasil rata-rata ekspresi TGF- β dan β -actin pada kolon mencit model colitis-associated colon

cancer dalam empat pengulangan. Untuk lebih mudahnya dapat ditunjukkan dengan grafik rerata seperti dibawah ini :



Grafik 5.1 Mean dan Standar Deviasi Ekspresi TGF- β pada tiap Perlakuan.

Keterangan :

- A : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) (kontrol positif).
- B : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) + ekstrak daun benalu mangga 125mg/KgBB.
- C : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) + ekstrak daun benalu mangga 250mg/KgBB.
- D : 10mg/Kg BB Azoxymethane (AOM) dan 5% Dextran Sulfate Sodium Salt (DSS) + ekstrak daun benalu mangga 500mg/KgBB.
- E : Normal (kontrol negatif).

5.2 Analisis Data

Pada penelitian ini, pemberian terapi ekstrak daun benalu mangga merupakan variabel bebas. Sementara variabel tergantung adalah ekspresi TGF- β pada kolon mencit. Data hasil rerata ekspresi TGF- β dilakukan pengujian normalitas dan homogenitasnya terlebih dahulu.

Dari hasil pengujian normalitas Shapiro-Wilk (Lampiran 3) dapat diketahui bahwa nilai signifikansi untuk masing-masing kelompok didapatkan berturut-turut sebesar $p=0.369$; $p = 0.024$; $p = 0.972$; $p = 0.647$; $p = 0.01$. Nilai tersebut menunjukkan bahwa adanya distribusi data yang tidak normal ($p<0,05$), maka daripada itu dilakukan transformasi data namun uji normalitas data tetap menunjukkan distribusi yang tidak normal, sehingga syarat uji One Way ANOVA tidak terpenuhi. Sebagai alternatif pengolahan data, peneliti menggunakan uji Kruskal-Wallis.

Dari hasil uji Kruskal-Wallis (Lampiran 4) didapatkan nilai signifikansi $p=0,001$ ($p<0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok uji sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi TGF- β yang signifikan pada 2 atau lebih kelompok perlakuan. Analisis dilanjutkan dengan analisis Post Hoc yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes Kruskal-Wallis dengan menggunakan uji Mann-Whitney (Lampiran 5).

Dari uji Mann-Whitney diperoleh hasil sebagai berikut :

Nilai p	A (K+)	B	C	D	E (K-)
A (K+)	-	0,137	0,191	0,020	0,018
B	0,137	-	0,019	0,019	0,017
C	0,191	0,019	-	0,020	0,018
D	0,021	0,019	0,020	-	0,137
E (K-)	0,018	0,017	0,018	0,137	-

Tabel 5.2 hasil uji Mann-Whitney

Dari hasil uji Mann-Whitney didapatkan perbedaan jumlah ekspresi TGF- β yang signifikan ($p<0,05$) pada kelompok A dan D, kelompok A dan E, kelompok

B dan C, kelompok B dan D, kelompok B dan E, kelompok C dan D, dan kelompok C dan E. dan didapatkan jumlah ekspresi TGF- β yang tidak berbeda signifikan pada kelompok A dan B, kelompok A dan C, dan kelompok D dan E.

5.2.1 Uji Korelasi

Untuk mengetahui besarnya hubungan dan pengaruh dari pemberian ekstrak daun benalu mangga terhadap ekspresi TGF- β pada kolon mencit, maka digunakan uji korelasi Spearman.

Uji korelasi nonparametrik Spearman (Lampiran 6) menunjukkan nilai signifikansi $p = 0,000$ ($p < 0,05$) dan koefisien korelasi 0.774 yang mempunyai arti bahwa terdapat korelasi bermakna antara konsentrasi ekstrak terhadap ekspresi TGF- β . Arah korelasi yang bernilai positif berarti korelasi berbanding lurus, yang menunjukkan semakin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula jumlah ekspresi TGF- β , serta menunjukkan kekuatan korelasi yang kuat.

BAB 6

PEMBAHASAN

Kanker kolon atau usus besar adalah keganasan dari sel epitel kolon atau rektum. Kejadian keganasan di kolon ini dikaitkan dengan pajanan terhadap berbagai karsinogen dan gaya hidup. Penyakit radang usus (kolitis ulceratif) merupakan pemicu meningkatkan resiko kanker kolon (Abdullah, 2007).

Adanya penatalaksanaan kanker yang belum tepat, belum efektif dan efek samping obat maka perlu dicari pencegahan untuk kanker kolon selain dengan imunitas salah satunya dengan memanfaatkan bahan herbal yang mudah didapat. Tanaman yang diduga dapat digunakan sebagai obat pencegahan untuk kanker adalah benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). (Purnomo, 2000). Daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) mengandung flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid dan saponin (Ikawati et al, 2004). Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) memiliki aktivitas antiinflamasi, sehingga ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) digunakan pada penelitian ini karena kemampuannya dalam menekan inflamasi pada kolon mencit yang diinduksi AOM dan DSS.

Dari hasil uji Kruskal-Wallis (Lampiran 4) didapatkan nilai signifikansi $p=0,001$ ($p<0,05$) antara kelompok kontrol dan kelompok uji sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi TGF- β yang signifikan diantara kelompok yang diberi ekstrak daun benalu mangga dengan berbagai dosis.

Pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat mencegah proses terjadinya peradangan yaitu melalui penghambatan pelepasan mediator kimia serotonin dan histamin ke tempat terjadinya radang.

Selain itu, juga menghambat sintesis prostaglandin yang merupakan mediator utama dari inflamasi. Penghambatan sintesis prostaglandin diduga dengan cara menghambat kerja siklooksigenase (COX) yang berfungsi merubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin bila terjadi radang (Hasanah, 2011).

Pada uji multi komparasi Pos Hoc Mann-Whitney (Lampiran 5) didapatkan perbedaan jumlah ekspresi TGF- β yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok A dan D, kelompok A dan E, kelompok B dan C, kelompok B dan D, kelompok B dan E, kelompok C dan D, dan kelompok C dan E. Dan didapatkan jumlah ekspresi TGF- β yang tidak berbeda signifikan pada kelompok A dan B, kelompok A dan C, dan kelompok D dan E. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan ekspresi TGF- β pada beberapa kelompok perlakuan. Kelompok A, yaitu kelompok dengan mencit model *colitis-associated colon cancer* tanpa diberi ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) menunjukkan ekspresi TGF- β yang rendah. kelompok B dan C menunjukkan ekspresi TGF- β yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok A. Kelompok D menunjukkan peningkatan ekspresi TGF- β . Hal ini dikarenakan dosis terapi benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) yang diberikan pada kelompok D merupakan dosis yang paling tinggi yaitu 500mg/Kg BB.

Hasil ekspresi TGF- β pada kelompok B dan C yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok A (kontrol positif) menunjukkan bahwa terapi ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) pada kelompok B (dosis 125mg/KgBB) dan C (dosis 250mg/KgBB) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan ekspresi TGF- β pada mencit yang diinduksi *colitis-associated colon cancer* menunjukkan bahwa dosis ekstrak yang diberikan

pada kelompok B dan C tidak bisa mencegah terjadinya inflamasi. Hasil Ekspresi TGF- β pada kelompok D (diberi ekstrak daun benalu mangga 500mg/KgBB) yang berbeda signifikan dengan kelompok A (kontrol positif) merupakan hasil yang diharapkan karena ini berarti mencit model *colitis-associated colon cancer* yang diterapi menggunakan ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat mengalami peningkatan ekspresi TGF- β yang jumlahnya mendekati kelompok E (kontrol negatif). Hal ini sesuai dengan hipotesis yang dibuat yaitu ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada mencit Balb/c model *colitis-associated colon cancer*. Menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dapat mencegah proses terjadinya peradangan.

Nilai positif pada uji korelasi nonparametric Spearman (Lampiran 6) menunjukkan adanya korelasi berbanding lurus antara jumlah konsentrasi ekstrak dengan jumlah ekspresi TGF- β . Semakin tinggi konsentrasi ekstrak benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) yang diberikan sebagai terapi pada mencit yang diinduksi *colitis-associated colon cancer*, maka semakin tinggi pula ekspresi TGF- β , yang artinya semakin menurun inflamasi yang terjadi pada kolon mencit. Karena inflamasi bisa dihambat, sel sel imun seperti makrofag dan NK sel tidak teraktivasi. Hal ini menyebabkan sel limfosit T tidak teraktivasi, Th1 tidak terbentuk, menyebabkan teraktivasinya Th2 sehingga ekspresi sitokin antiinflamasi mengalami peningkatan salah satunya TGF- β . Terdapat korelasi yang sangat kuat antara ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan ekspresi TGF- β . Sehingga pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) yang mengandung flavonoid kuersetin bermanfaat sebagai alternatif dalam mencegah

kolitis yang merupakan pemicu meningkatkan resiko kanker kolorektal. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Hasanah (2011) bahwa ekstrak rimpang kencur yang mengandung flavonoid memberikan aktivitas antiinflamasi pada mencit yang diinduksi karagenan. Middleton (2000) menyatakan bahwa flavonoid kuersetin dapat mencegah inflamasi yaitu melalui penghambatan PLA2 (Phospholipase A2) yang berfungsi sebagai stimulator pelepasan asam arakhidonat oleh phospholipid membrane sel, sehingga menghambat kerja siklooksigenase (COX). Dengan terhambatnya jalur siklooksigenase sintesis prostaglandin yang merupakan mediator utama inflamasi terhambat.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) terhadap ekspresi TGF- β pada mencit model *colitis-associated colon cancer*, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) pada mencit Balb/c model *colitis-associated colon cancer*.
2. Ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) dapat meningkatkan ekspresi TGF- β pada mencit Balb/c model *colitis-associated colon cancer*.
3. Dosis ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) sebesar 500mg/Kg BB menunjukkan hasil paling efektif untuk meningkatkan ekspresi TGF- β pada mencit model *colitis-associated colon cancer*.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi bahan aktif yang terkandung di dalam tanaman benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*) yang dapat digunakan untuk pencegahan kanker kolon.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping dari pemberian ekstrak etanol daun benalu mangga (*Dendrothoe pentandra*).

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology*. Ed ke-6. Philadelphia : Elsevier Inc.
- Abdullah, M. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Cetakan Kedua. Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Baratawidjaja KG, Rengganis I. 2009. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Blobe, GC., Schiemann WP. and Lodish HF.. Role of Transforming Growth Factor β in Human Disease. *Then New England Journal of Medicine*, 2000.
- Cagir, B. dan Trostle, D.R., 2009. *Rectal Cancer*. <http://emedicine.medscape.com>
- Casciato, DA., 2004. *Manual of Clinical Oncology*. 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. USA.
- Chandrasoma, P. dan Clive R, Taylor., 2005. *Ringkasan Patologi Anatomi*. Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.
- Comalada M, Ballester I, Baillo'n E, Sierra S, Xaus J, Ga'lvez J, et al. Inhibition of pro-inflammatory markers in primary bone marrow-derived mouse macrophages by naturally occurring flavonoids: analysis of the structure-activity relationship. *Biochem. Pharmacol.* 2006;72:1010–21.
- Condos R, Rom WN. 2004. *Cytokines Response in Tuberculosis*. second edition by Rom WN, Garay SM. Lippincott William & Wilkin Co. p285-299.
- Corman, ML., 2005. *Carcinoma of The Colon. Colon and Rectal Surgery*. 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins Publisher.
- Daldiyono, dkk., 1990. *Kanker Kolon dan Peran Diet Tinggi Serat, Kejadian di Negeri Barat*. Gizi Indonesia. Vol. 15.
- Depkes RI. 2009. *Profil Kesehatan Indonesia 2008*. Jakarta.
- Dragovich, T. dan Tsikitis, V.L., 2009. *Colon Cancer, Adenocarcinoma*. <http://emedicine.medscape.com/>
- Elliott, D. E., Li, J., Blum, A., Metwali, A., Qadir, K., Urban, J. F. Jr., and Weinstock, J. V. (2003) Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 284, G385–G391

Endharti AT, Okuno Y, Shi Z, Misawa N, Toyokuni S, Ito M, Isobe K, Suzuki H. CD8+CD122+ regulatory T cells (Tregs) and CD4+ Tregs Cooperatively Prevent and Cure CD4+ Cell-induced Colitis. *J Immunol.* 2011 ;186(1):41-52

Ghaib, H., 2009. *Diagnostic Imaging for Colorectal Cancer*. Referat. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya.

Hasanah, Aliyah N. Analisis Kandungan Minyak Atsiri dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal L.*). *Jurnal Matematika dan Sains*, 2011, Vol, 16 no. 3

Heiken, JP, et al., 2006. *Expert Panel on Gastrointestinal Imaging. Colorectal Cancer Screening*. American College of Radiology (ACR).

Ikawati M, Andy Eko Wibowo, Navista Sri Octa U., Rosa Adelina. 2004. Pemanfaatan Benalu Sebagai Agen Antikanker. http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wp-content/uploads/paper_benalu_muthi.pdf. 9 November 2012

Joanne, A.P., Wilson, M.D. Tumor Necrosis Factor α and Colitis-Associated Colon Cancer. June 2008 *The New England Journal*.

Lamson, Davis W, MS, ND, and Brignall, Matthew S. ND. 2000. *Antioxidants and cancer III: Quercetin, Alternative Medicine Review Volume 5* Number 3.

Lafuente A.G, Guillamo'n E , Villares A, Mauricio A. Rostagno, Mart'inez J. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation research*, 2009, 58:537–552.

Levi PE. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology Second Edition Chapter 8: Chronic Toxicity: Carcinogenesis, Mutagenesis, Teratogenesis*. Singapore: McGraw-Hill Book Co

Lee, D., 2005. *Colon Cancer (Colorectal Cancer)*. <http://www.medicinenet.com/>

Lindseth, N.G., 2006. *Gangguan Usus Besar dalam Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Volume I. Edisi 6. Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.

Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev.* 2000;52:673–751.

Padmi, Anggrianti. 2008. *Uji Sitotoksik Ekastrak Etanol 70% Buah Kemukus (Piper cubeba L.) Terhadap Sel HeLa*. Fakultas Farmasi UNMUH. Surakarta.

Persaud R, Wang A, Reardon C, Mckay D.M, Characterization of the Immuno-regulatory Response to the Tapeworm *Hymenolepis diminuta* in the non-permissive Mouse Host. *International Journal for Parasitology*, vol. 37, no. 3-4, pp. 393–403, 2006.

Purnomo, B.. 2000. *Uji Ketoksikan Akut Fraksi Etanol Daun Benalu (Dendrophthae Sp) Pada Mencit Jantan Dan Uji Kandungan Kimia*, Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Rifa'i, Muhaimin. 2009. *Signal Transduksi dan Sistem Pertahanan Tubuh*. Edisi pertama, Galaxy Science, malang.

Rosidah, S. Yulinah ,Elin, S. Gana. 1999. *Uji Aktivitas Antiradang pada Tikus Galur Wistar dan Telaah Fitokimia Ekstrak Daun Babadotan dan Ekstrak Rimpang Jahe*.institit teknologi bogor.

Sukpondma Y, Rukachaisirikul V, Jasakul C. 2000. *Chemical Constituents from Leaves of Dendrophthoe petandra*. 26th Congress on Science and Technology of Thailand.

Saladin, K.S., 2008. *Human Anatomy*. 2nd Edition. Mc. Graw-Hill Companies. New York.

Sari, Eva Purnama.2010.*Karakteristik Penderita Kanker colorectal Rawat Inap Di RSU. Dr. Pirngadi Medan Tahun 2005-2009*.Tugas Akhir.Fakultas Kesehatan Universitas Sumatera Utara, Medan.

Sawitri, E. *Pengaruh Ekstrak Phyllanthus niruri Linn Terhadap Kanker Kolon Tikus Sprague-Dawley yang Diinduksi 1,2 Dimethylhydrazine*. Tesis. Universitas Diponegoro.

Simadibrata, R., 1997. *Karsinoma Kolo-Rektal dalam Gastroenterologi Hepatologi*. Cetakan Kedua. Sagung Seto. Jakarta.

Shafik, A., 2000. *Surgical Anatomy of the Anal Canal*. Neto JA. Rio de Jainero

Sloane, E., 2004. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Pemula*. Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.

Soeroso, Admadi. Sitokin. *Jurnal Oftalmologi Indonesia* vol.5, RSUD dr. Moewardi, Surakarta, hal : 171

Sukardiman. 1999. *Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (Dendrophthoe petandra)*, skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Surabaya.

Sukardja, I.G., 2000. *Onkologi Klinik*. Edisi 2. Airlangga University Press. Surabaya.

Suzuki R, Kohno H, Sugie S, Nakagama H, Tanaka T. 2006. Strain differences in the susceptibility to azoxymethane and dextran sodium sulfate-induced colon carcinogenesis in mice. *Carcinogenesis*. 27:162–169.

Syaifuddin, H., 2002. *Struktur dan Komponen Tubuh Manusia*. Widya Medika. Jakarta.

Syamsuhidajat, R. dan Jong W.D., 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. 2nd Edition. Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.

Taketo MM. 1998. Cyclooxygenase-2 inhibitors in tumorigenesis (part II). *J Natl Cancer Inst*;90:1609-620.

Tambunan, G.W., 1994. *Patologi Gastroenterologi*. Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.

The McGraw-Hill Companies, Inc., 2002. *McGraw-Hill Concise Dictionary of Modern Medicine*. <http://www.medical-dictionary.com/>

van Hogezaand R.A., Eichhorn R.F., Choudry A., Veenendaal R.A. and 491 Dose-dependent effects of DSS on mouse colon carcinogenesis Lamers C.B. (2002). Malignancies in inflammatory bowel disease: fact or fiction? *Scand. J. Gastroenterol. Suppl* 236, 48-53.

Van Steenis, C. G. G. J . 1975 . Flora untuk sekolah di Indonesia . Pradnya Paramita. Jakarta.

Waji AR, Andis S. 2009. *Flavonoid (Quercetin)*. Makasar: Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.

Warsinggih and Syarifuddin W.. The Role of Immune Cells in Colorectal Carcinoma Prognose. *The Indonesian Journal of Medical Science*, 2010, 1 (2): 45-53.

WHO. 2007. *Western Pasific Regional Health Data Bank 2006 Revision*.

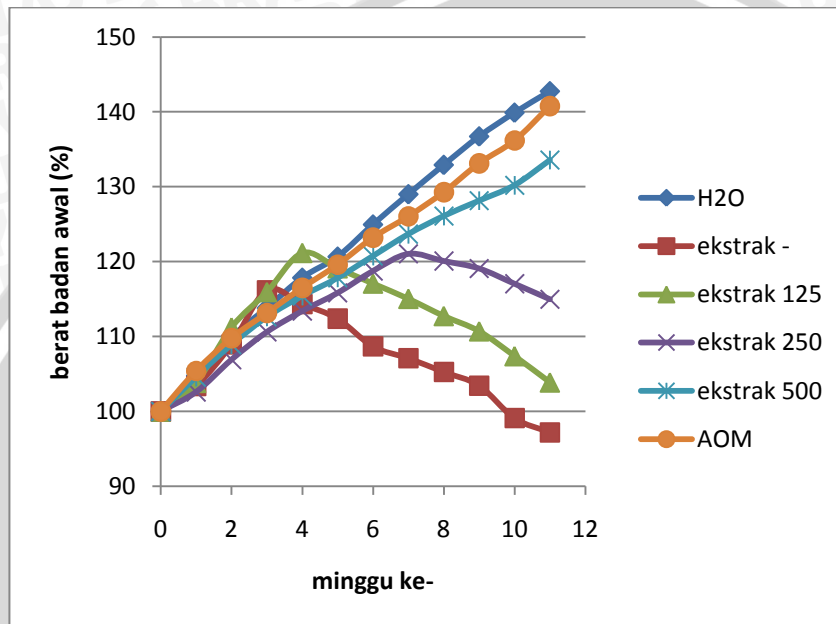
WHO. 2009. *World Health Statistic*.

Widjaja, H.PA., 2009. *Anatomi Abdomen*. Penerbit Buku Kedokteran (EGC). Jakarta.

Wolpin, B.M., dan Mayer, R.J., 2008. *Systemic Treatment of Colorectal Cancer*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

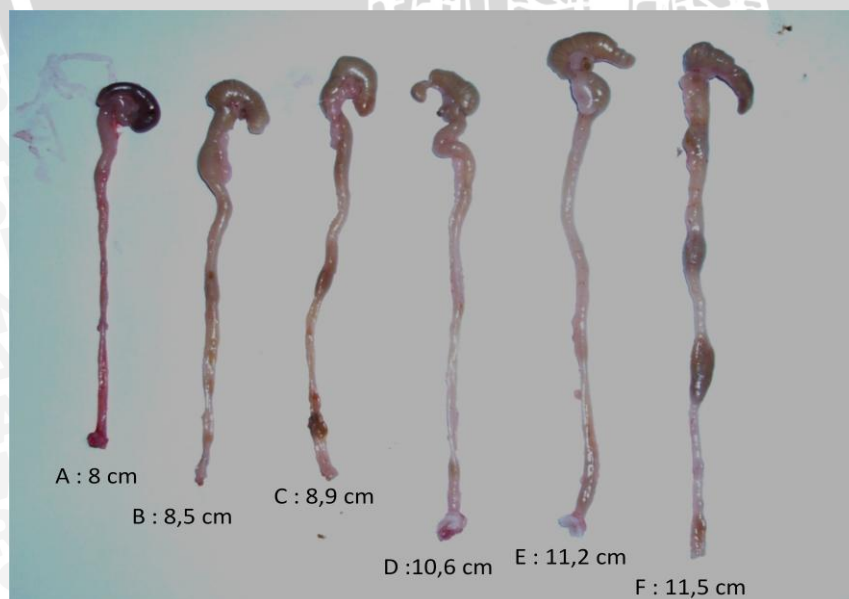
LAMPIRAN

Lampiran 1



Berat badan mencit

Lampiran 2



Gambar kolon mencit

Lampiran 3

Tests of Normality							
Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ekspresi_TGF	A	.288	4	.	.887	4	.369
	B	.307	4	.	.729	4	.024
	C	.151	4	.	.993	4	.972
	D	.277	4	.	.939	4	.647
	E	.441	4	.	.630	4	.001

Uji Normalitas Shapiro wilk

Lampiran 4

Ranks			
kelompok_perlakuan		N	Mean Rank
Ekspresi_TGF_β	A	4	6.38
	B	4	9.75
	C	4	3.38
	D	4	17.25
	E	4	21.00
Total		20	

Test Statistics^{a,b}

	Ekspresi_TGF_β
Chi-Square	19.778
df	5
Asymp. Sig.	.001

Uji Kruskal Wallis

Lampiran 5

Tes Perlakuan A banding B

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.488
Asymp. Sig. (2-tailed)	.137
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

Tes perlakuan A banding C

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	3.500
Wilcoxon W	13.500
Z	-1.307
Asymp. Sig. (2-tailed)	.191
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

Tes perlakuan A banding D

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan A banding E

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan B banding C

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan B banding D

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.352
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan B banding E

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.397
Asymp. Sig. (2-tailed)	.017
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan C banding D

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan C banding E

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.018
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

Tes perlakuan D banding E

	Ekspresi TGF- β
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.488
Asymp. Sig. (2-tailed)	.137
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

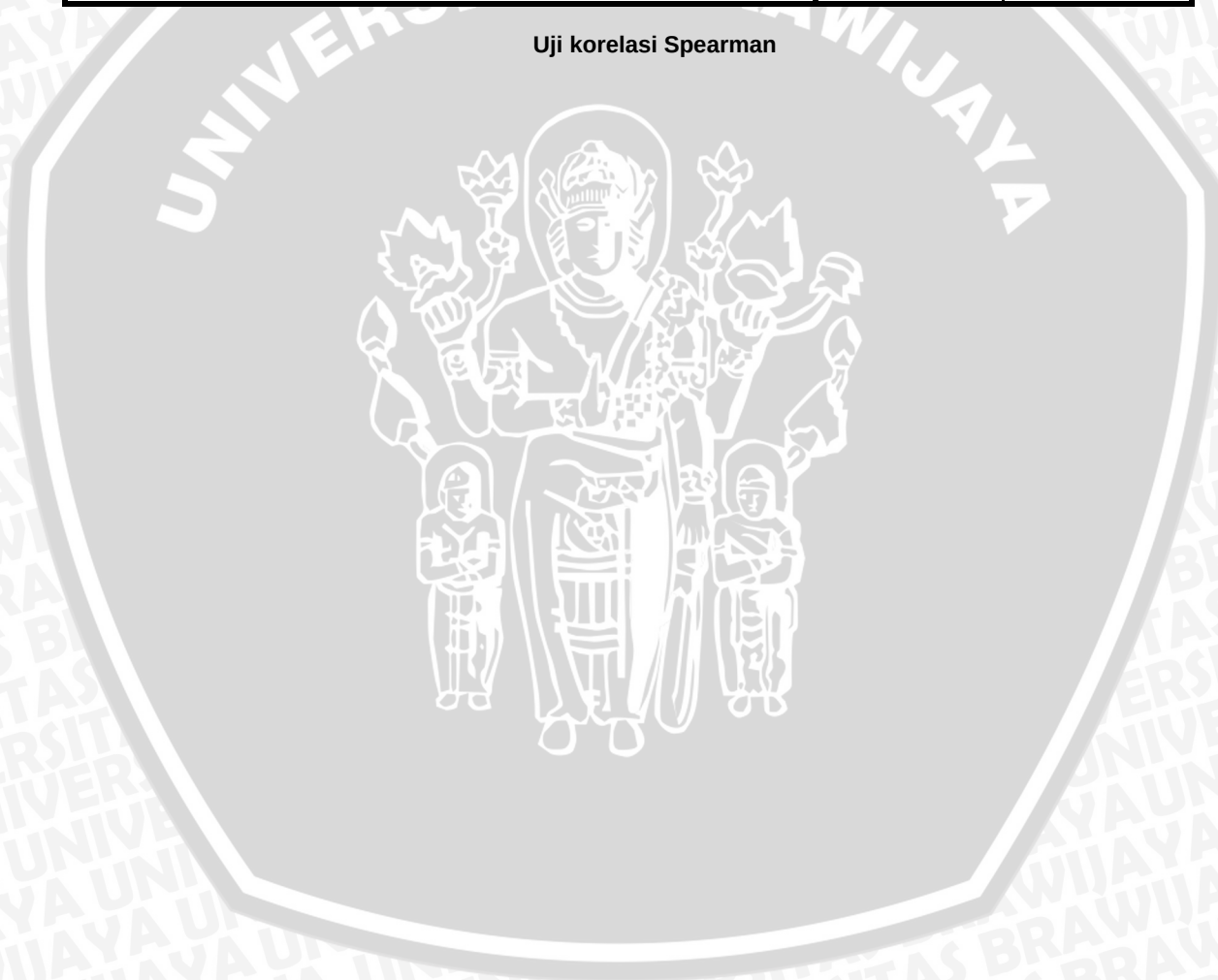
Uji Mann-Whitney

Lampiran 6

Correlations

		Ekspresi_TGF_β	kelompok_perlakuan
Spearman's rho	Ekspresi_TGF_β	Correlation Coefficient	1.000
		Sig. (2-tailed)	.774**
		N	24
	kelompok_perlakuan	Correlation Coefficient	.774**
		Sig. (2-tailed)	1.000
		N	24

Uji korelasi Spearman



SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang tersebut di bawah ini

Nama : Ego Frendy Damara

NIM : 0910710063

Judul Skripsi/Tugas Akhir : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Benalu

Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Terhadap Ekspresi TGF-B Pada Mencit Model *Colitis-Associated Colon Cancer*.

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atas pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan tugas akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Maret 2013

Yang membuat pernyataan,

Ego Frendy Damara
NIM 0910710063



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 111-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : POTENSI EKSTRAK BENALU MANGGA (*Dendrophthoe pentandra*) SEBAGAI AGEN ANTI COLORECTAL CANCER PADA MENCIT (*Mus musculus* BALB/C) SETELAH INDUKSI DEXTRAN SULVAT (DSS) DAN AZOXYMETHANE (AOM)

PENELITI : MOCH HARDI BARAMADA WICAKSONO

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : S-1/BIOLOGI/F-MIPA/UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 21 Desember 2012
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

