

## I. PENDAHULUAN

### 1.1.Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang abnormal dan tidak terkontrol. Kanker masih bertanggung jawab atas masalah kesehatan dan penyebab sebagian besar kematian di seluruh dunia sampai saat ini. Salah satu jenis kanker yang menyumbang kematian terbesar adalah kanker serviks. Kanker ini paling sering didiagnosa dan menjadi penyebab keempat kematian akibat kanker yang terjadi pada wanita (1). Kanker serviks adalah keganasan yang terjadi pada leher rahim (serviks) dengan penyebab utama virus HPV (*Human Papillomavirus*), terutama jenis HPV 16 dan HPV 18 (2). Berdasarkan data statistik kanker global, *Global Cancer Incidence Mortality and Prevalence* (GLOBOCAN) pada tahun 2020 terjadi lebih dari 19,3 juta kasus kanker baru dan menjadi penyebab sekitar 10 juta kematian (3). Kasus kanker serviks sendiri diperkirakan 604.000 kasus baru dan 342.000 kematian (1). Kementerian Kesehatan RI tahun 2021 mencatat terjadi kasus kanker serviks diangka 23,4 per 100.000 kejadian dengan 13,9 per 100.000 kematian (4).

Kelainan genetik atau mutasi genetik mendasari sebagian besar kanker. Mutasi ini dapat mengubah sel normal menjadi sel kanker dengan memberikan sifat atau ciri khas baru pada sel tersebut salah satunya, kemampuan sel untuk menginvasi sel lain dan bermetastasis (5). Dua proses yang berkaitan erat dan memicu perkembangan kanker ke stadium lebih lanjut, bahkan menjadi penyebab utama kematian terkait kanker. Pada proses tersebut sel kanker secara ekstensif akan bermigrasi, baik dalam bentuk migrasi sel tunggal maupun migrasi sel kolektif tanpa henti yang mendorong perkembangan dan penyebaran kanker (6). Pada perkembangannya, berbagai macam pengobatan untuk kanker telah dilakukan sesuai tingkat keparahannya. Pembedahan, radiasi, kemoterapi tunggal maupun kombinasi telah diterapkan (7). Namun, pengobatan ini menimbulkan efek samping seperti masalah pada sumsum tulang belakang, sistem saraf, sistem

pencernaan, jantung, serta mempengaruhi sel-sel yang berproliferasi cepat di tubuh seperti rambut dan kuku (8).

Pengembangan obat bahan alam merupakan salah satu solusi pengobatan dengan efek samping yang minimal. Bahan alam yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker salah satunya adalah *Garcinia cowa* Roxb. Tumbuhan yang berasal dari genus *Garcinia* ini tumbuh subur dan tersebar di daerah dataran tropis seperti di Asia Pasifik, Afrika, dan Polynesia (9). Tumbuhan ini juga mudah dijumpai di Indonesia dan dikenal oleh masyarakat Sumatera Barat dengan nama asam kandis (10). Asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb) sering digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional. Hampir semua bagian dari tumbuhan ini dimanfaatkan sebagai obat. Bagian buah dan daunnya digunakan untuk memperlancar aliran darah, pengencer dahak, sebagai pencahar dan atasi masalah pencernaan (11). Pemanfaatan kulit batang dan akar juga dilakukan sebagai penurun demam dan disentri (12).

Senyawa yang dihasilkan dari *G. cowa* ini sangat beragam, terdiri dari golongan santon, flavonoid, benzofenon, depsidon, dan terpenoid (13). Sejumlah penelitian juga menunjukkan bahwa senyawa-senyawa ini memiliki bioaktivitas lain, diantaranya sebagai antimikroba, antioksidan, antidiabetes, antivirus, dan antiinflamasi (14). Sifat antibakteri yang efektif terhadap patogen ditemukan tinggi pada ranting (12). Aktivitas farmakologi sebagai antitumor, antikolesterol, dan antiplatelet juga ditemukan (15). Berdasarkan studi fitokimia yang telah dilakukan sebelumnya, melaporkan *G. cowa* sebagai salah satu sumber santon terkaya. Sehingga, golongan senyawa ini menjadi sumber daya yang banyak digunakan dalam pengembangan obat-obatan. Senyawa aktif utama kulit batang dari golongan ini adalah rubrasanton. Senyawa ini telah terbukti memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker (16).

Pelaporan aktivitas sitotoksik senyawa rubrasanton telah dilakukan pada sel kanker, seperti sel kanker payudara (MCF-7), paru-paru (H-460), dan prostat (DU-145) (10). Efek penghambatan yang baik juga terdapat pada kanker usus besar (14). Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, diperoleh senyawa rubrasanton memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks HeLa dengan

nilai  $IC_{50}$  15,17  $\mu$ M yang menunjukkan aktivitas sitotoksik yang bagus atau baik dalam pertumbuhan sel kanker serviks (10). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik rubrasanton dalam menghambat migrasi sel kanker serviks HeLa yang berperan dalam invasi dan metastasis sel kanker sebagai terapi dari bahan alam dengan efek samping yang lebih minimal.

## 1.2.Rumusan Masalah

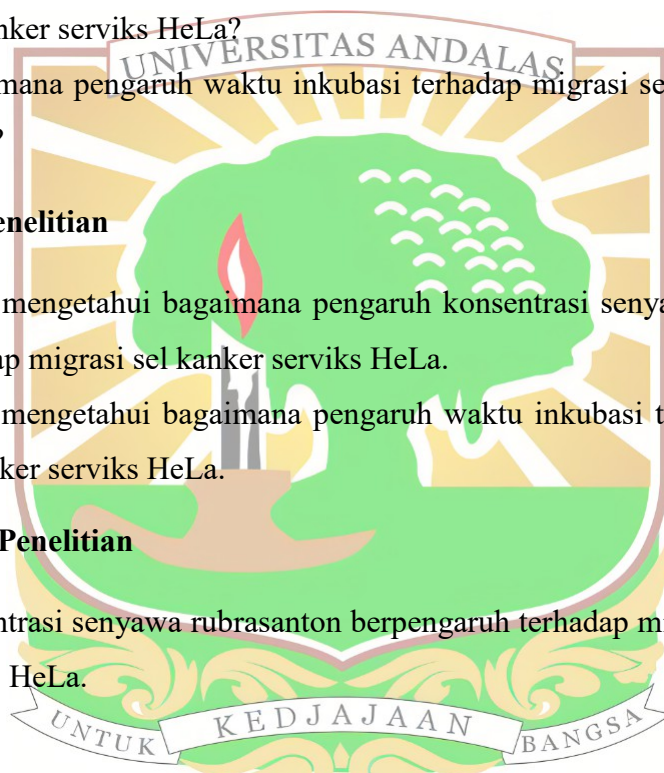
1. Bagaimana pengaruh konsentrasi senyawa rubrasanton terhadap migrasi sel kanker serviks HeLa?
2. Bagaimana pengaruh waktu inkubasi terhadap migrasi sel kanker serviks HeLa?

## 1.3.Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh konsentrasi senyawa rubrasanton terhadap migrasi sel kanker serviks HeLa.
2. Untuk mengetahui bagaimana pengaruh waktu inkubasi terhadap migrasi sel kanker serviks HeLa.

## 1.4.Hipotesis Penelitian

- Konsentrasi senyawa rubrasanton berpengaruh terhadap migrasi sel kanker serviks HeLa.
- Waktu inkubasi berpengaruh terhadap migrasi sel kanker serviks HeLa.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Asam Kandis (*Garcinia cowa* Roxb.)

#### 2.1.1 Klasifikasi

*Garcinia* merupakan salah satu genus tumbuhan dikenal dengan nama manggis-manggisan dengan spesies terbanyak dan tersebar di dataran rendah hutan tropis Asia, Afrika, dan Polynesia. Masyarakat Sumatera Barat mengenal *Garcinia cowa* sebagai asam kandis (9).

Klasifikasi tumbuhan *Garcinia cowa* Roxb. adalah sebagai berikut:



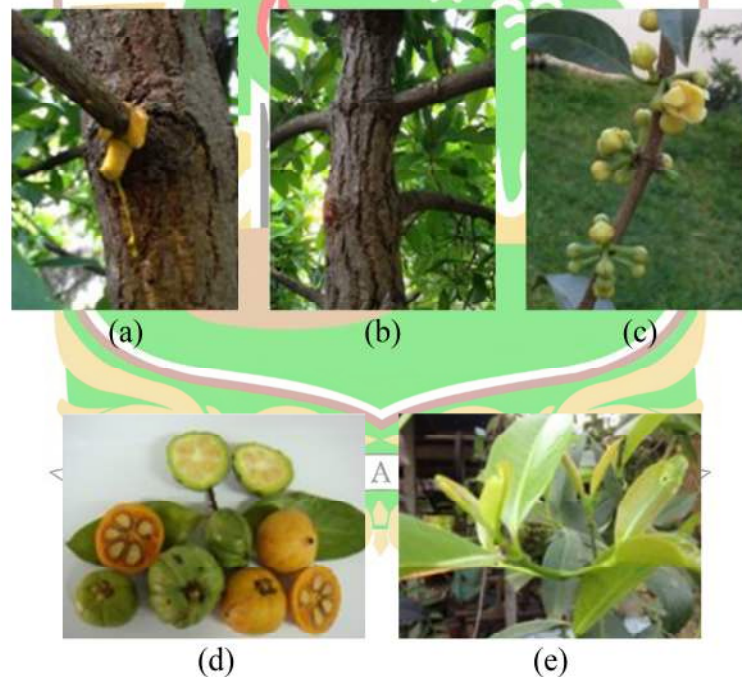
Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Theales
Famili	: Clusiaceae atau Guttiferae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia cowa</i> Roxb. (17)

#### 2.1.2 Morfologi dan Penyebaran

Tumbuhan *Garcinia cowa* Roxb. memiliki batang dengan tinggi mencapai 18 m dan diameter 90 cm dengan banyak cabang serta memiliki getah berwarna kuning. Bunganya terdiri dari empat sepal dan empat petal yang terletak di belakang daun dengan membentuk kelompok kecil. Daunnya memiliki bentuk elips dengan kedua ujung melancip, ukuran 12 x 6 cm sampai dengan 19 x 8 cm. Buahnya terletak di belakang daun dengan warna merah, permukaan berkerut, tidak rata, mengandung banyak air (9). Diameter buah berkisar 2 - 5 cm dengan 2

- 4 biji berukuran besar, berbentuk segitiga, dan dikelilingi daging buah berwarna jingga pucat yang dapat ditemukan ketika buah matang (18).

Tumbuhan yang berasal dari famili Clusiaceae ini merupakan tanaman yang sering ditemukan liar di dalam hutan, perbukitan, dan sepanjang sungai. Tanaman ini berasal dari India Timur, Thailand, Laos, Vietnam, Kampuchea, Nepal, Myanmar dan Cina (11). Sebutan untuk tumbuhan ini di beberapa negara, seperti di India dikenal dengan nama *bhava*, *chenhek* (Mizoram), *cowa* (Hindu), *cuitheker*, *kangach*, *kau* (Bengali), *kujithe kera* (Assamese). Cina menyebut dengan nama *yun nan shan zhu zi*, *yun shu*, Thailand dengan nama *cha muang*, dan Jepang dengan nama *ganboj*. Kandi sebutan oleh masyarakat Malaysia dan Indonesia sendiri khususnya orang Jawa memiliki sebutan *kemenjing*, *ki ceuri* (18).



Gambar 2. 1 (a) kulit batang dan getah, (b) cabang, (c) bunga, (d) buah, dan (e) daun (19).

### 2.1.3 Kegunaan

Tumbuhan *Garcinia cowa* Roxb. diketahui memiliki banyak khasiat, salah satunya sebagai obat tradisional yang sering digunakan oleh masyarakat.

Pengobatan tradisional menggunakan tumbuhan ini sudah banyak dilakukan seperti pada pengobatan tradisional di Thailand. Bagian buah dan daunnya dimanfaatkan untuk memperlancar aliran darah, ekspektoran, pencahar, dan mengatasi masalah pencernaan (11). Sifat antibakteri yang efektif terhadap patogen juga dapat ditemui pada kulit buah (12). Bagian kulit batang bermanfaat sebagai antipiretik dan antimikroba. Ranting yang kaya dengan senyawa toksisitas selektif terhadap sel kanker juga ditemukan (12). Bagian akarnya digunakan untuk mengatasi demam. Manfaat ini juga digunakan untuk mengobati disentri oleh orang India Timur dengan membuat irisan kering buah di bawah sinar matahari (11). Aktivitas farmakologi sebagai antitumor, penghambatan peroksidasi lipoprotein densitas rendah, dan pelaporan efek antiplatelet juga sudah dilakukan (15).

Aktivitas farmakologis yang telah dibuktikan dari *G. cowa* sebagai berikut:

a. Aktivitas antioksidan

Hasil ekstrak aseton ranting *G. cowa* menunjukkan aktivitas yang tinggi sebagai antioksidan sedangkan ekstrak heksana dan kloroform menunjukkan kapasitas antioksidan yang tinggi melalui pembentukan kompleks fosfomolibdenum (11).

b. Aktivitas antikanker

Ekstrak metanol dari *G. cowa* menunjukkan aktivitas sitotoksik sedang dan selektif terhadap sel tumor paru. Senyawa ini juga menunjukkan sitotoksitas selektifnya terhadap dua lini sel kanker kolorektal HT-29 dan HCT116 serta terhadap sel usus besar yaitu CCD-18Co. Senyawa baru depsidon dan cowadepsidon yang diisolasi dari ranting tumbuhan ini menunjukkan aktivitas terhadap lini sel kanker KB, payudara MCF-7, dan paru-paru NCI-H187 (11).

c. Aktivitas antiinflamasi

Hasil isolasi delapan senyawa santon tetraoksigenasi dari buah *G. cowa* menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang diamati pada edema telinga yang telah

diinduksi etil phenil propiolat (EPP). Hasil menunjukkan senyawa cowasanton B-D, cowanin, dan  $\alpha$ -mangostin memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan dibandingkan fenilbutazon, cowasanton A, mangostanin, dan cowanol (11).

d. Aktivitas antibakteri

Lima golongan santon dari *G. cowa* menunjukkan aktivitas antimikroba sedang yang diamati pada *Staphylococcus aureus*. Ekstrak heksana dan kloroform dari kulit buah tumbuhan ini menunjukkan penghambatan pada pertumbuhan *Aspergillus flavus* dan produksi aflatoksin (11).

e. Aktivitas antimalaria

Senyawa santon dari kulit *G. cowa* ditemukan memiliki aktivitas antimalaria terhadap *Plasmodium falciparum* dengan nilai  $IC_{50}$  berkisar 1,50 hingga 3,00 mg/mL (11).

f. Aktivitas antimutagenesis

Ekstrak heksana kulit buah terbukti menunjukkan antimutagenisitas yang kuat terhadap mutagenisitas natrium azida yang diuji pada strain *Salmonella typhimurium*. Hasil yang signifikan juga ditunjukkan dari ekstrak kloroform (18).

Penggunaan *Garcinia cowa* Roxb. selain untuk pengobatan juga memiliki manfaat lainnya seperti memiliki buah dengan rasa asam yang dimanfaatkan sebagai selai. Buahnya juga bisa digunakan sebagai rempah penyedap masakan Melayu. Selain itu, bagian daun muda di Myanmar, Thailand, dan Malaysia dimasak dan dikonsumsi sebagai sayuran. Rasa asam dari buahnya juga dimanfaatkan sebagai pemberi rasa asam pada hidangan ikan dan kepiting. Kulit batangnya menghasilkan resin getah kuning yang diolah menjadi pewarna pakaian serta bahan dalam membuat pernis (11). Bagian kayu dari pohonnya juga digunakan untuk peralatan bangunan seperti pada pembuatan pacul, sekop, dan golok (9).

#### 2.1.4 Kandungan Kimia

Pada genus *Garcinia* telah dilaporkan beberapa spesiesnya mengandung senyawa sitotoksik terhadap sel kanker. Senyawa golongan santon dan benzofenon merupakan komponen utama yang terbukti memiliki aktivitas sitotoksik. Selain itu, terdapat senyawa golongan triterpen dan depsidon. Studi metabolit bioaktif dari setiap bagian tanaman *Garcinia* telah dilakukan. Pada kulit batang ditemukan sembilan polihidroksisanton terprenilasi dan piranosanton. Pada bagian lateks ditemukan norcowanin, cowanin, cowanol and cowaxanthone, 1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2,5-bis(3-methyl-2-butenyl) xanthone cowagarcinones A-E, mangostin dan fuscaxanthone. Pada kulit batang diisolasi tetraprenyl toluquinone, [2E,6E,10E]- (+)-4 $\beta$ -hydrox-3-methyl-5 $\beta$ -(3,7,11,15-tetramethyl -2,6,10, 14-hexadecatetraenyl-2-cyclohexen-1-one, 2-(3-methyl-2-butenyl)-1,5,6-trihydroxy-3-methoxy-4-(1,1-dimethyl-2-propenyl)-9H- xanthen-9-one (3) dan rubraxanthone (10).

Pada akar *G. cowa* diperoleh 44 senyawa hasil skrining fitokimia yang di antaranya, 5 terpen, 2 antrakuinon, 35 golongan santon dan 2 lainnya adalah flavonoid. Terdapat asam organik utama yaitu asam hidroksisitat sebanyak 1,7% pada buah dan 12,7% pada kulit. Terdapat asam hidroksil sitrat lakton, asam oksalat, dan asam sitrat dalam jumlah kecil dari buah, kulit, dan daun (18).

Golongan santon yang ditemukan pada bagian tumbuhan ini terdiri dari dulxanthone A, rubrasanton, cowagarcinone B, cowagarcinone D, cowagarcinone E, cowanin, garciniacowol, garcinicowone, norcowanin, parvifoliol,  $\alpha$ -mangostine,  $\beta$ -mangostin, 1,3,6-trihydroxy-7-methoxy-2, 5-bis(3-methyl-2-butenyl) xanthone, cowagarcinone A-E, cowanol, cowaxanthone D, cowaxanthone, cowaxanthone, fuscaxanthone, fuscaxanthone A,1,3,5 trihydroxy-6', 6-dimethyl-2H pyrano (2',3':6,7) xanthone, 1,7-dihydroxyxanthone; 1,3,5-trihydroxy-6-methoxyxanthone, 1,3,6 trihydroxy-7-methoxy8-(3,7-dimethyl-2,6-octadienylxanthone, 7-o-methylgarcinone E, cowaxanthones A-E, 1,6-dihydroxy cowaxanthone F, 7-o-methyl-garcinone E, 1,5,6-trihydroxy-3 methoxy-4-(3-hydroxyl-3-methylbutyl) xanthone, 1,5,6-trihydroxy-3, 7-dimethoxyxanthone, 1,3,6,7 tetrahydroxyxanthone, 1,5-dihydroxy-3 methoxy-6', 6'dimethyl 2H-pyrano (2',3':6,7)-4-(3-methylbut-2-enyl) xanthone, dan mangostinone (18).



Senyawa kelompok flavonoid yang ditemukan seperti kaempferol, quercetin, garccowaside A, garccowaside B, garccowaside C, 2-(3,5-dihydroxyphenyl)-2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-3',5,5',7-tetrahydroxyflavanone, 2-(3,5-Dihydroxy-phenyl)-2,3-dihydro-3,5,7-trihydroxy (2R, 3R)- 3,3',5,5',7-pentahydroxy flavanone, amentoflavone, morelloflavone, volkensiflavone, morelloflavone-7"-o-glucoside (fukugiside), dan 1,6-dihydroxyxanthone. Kelompok terpen dan steroid yang bisa ditemukan seperti friedelin dan stigmasterol, daucosterol dan sitosterol (18).

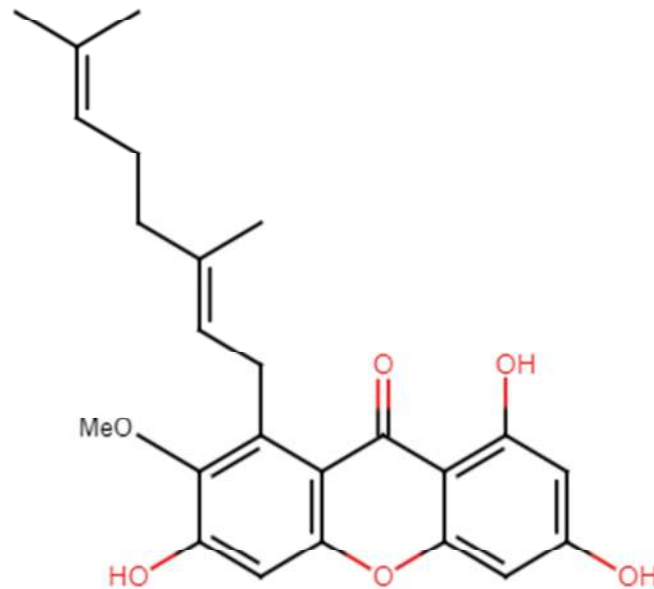
### 2.1.5 Senyawa Rubrasanton

Senyawa santon (nama IUPAC 9H-xanthen-9-one) merupakan jenis asam fenolik dengan tiga cincin dan terdistribusi secara luas dalam obat-obat herbal. Selama beberapa dekade terakhir, santon telah menjadi sumber daya penting untuk pengembangan obat seperti menunjukkan apoptosis, proliferasi sel dan bioaktivitas angiogenesis tumor. Selain itu, aktivitas antioksidan dan antiinflamasi juga dihasilkan. (14).

Senyawa rubrasanton diperoleh dalam bentuk jarum berwarna kekuningan dengan titik leleh 201-203°C dengan rumus molekul  $C_{24}H_{26}O_6$  dan BM 410 (10). Hasil isolasi dari kulit batang *G. cowa* diperoleh kandungan rubrasanton sampai dengan 40 mg/g (20). Senyawa ini merupakan salah satu senyawa yang terdapat pada tanaman *G. cowa* yang kaya manfaat untuk pengobatan berbagai macam penyakit. Aktivitas biologi yang dimiliki senyawa ini berupa antimikroba, antikanker, antioksidan, dan antiinflamasi. Efek antiinflamasi ditunjukkan dengan menghambat produksi NO dan mengaktifkan faktor pembekuan darah. Menurut studi *in vivo* yang sudah dilakukan, rubrasanton dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol total, trigliserida, dan kolesterol LDL dengan aktivasi lipoprotein enzim lipase dengan dosis 700 mg/kg bb (20).

Aktivitas sitotoksik senyawa murni digolongkan sangat baik apabila memiliki nilai  $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$ , baik  $11-30 \mu\text{g/mL}$ , dan lemah  $30-100 \mu\text{g/mL}$ . Senyawa murni rubrasanton telah terbukti pada beberapa sel kanker. Pada sel kanker payudara (MCF-7) menunjukkan aktivitas sitotoksik dengan nilai  $IC_{50} 37,4$

$\mu\text{M}$ . Pada sel kanker paru-paru (H-460) menunjukkan nilai  $\text{IC}_{50}$  17,5  $\mu\text{M}$ . Terhadap sel kanker prostat (DU-145) diperoleh nilai  $\text{IC}_{50}$  42,3  $\mu\text{M}$  (10). Senyawa ini juga menunjukkan efek penghambatan yang baik terhadap kanker usus besar dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  33,9  $\mu\text{M}$  (14).



Gambar 2. 2 Struktur kimia senyawa rubrasanton

## 2.2.Kanker

Kanker adalah sel tubuh normal yang mengalami mutasi atau perubahan sehingga membelah dengan sangat cepat dan tumbuh tidak terkendali. Sel kanker bersifat invasif dan setelah usianya cukup, sel tidak mati melainkan tumbuh terus menerus dan merusak sel normal disekitarnya. Pada sel normal memiliki masa hidup terprogram yang dipicu dengan terjadinya apoptosis. Kematian terprogram ini tidak hanya disebabkan karena faktor penuaan namun juga karena pengaktifan jalur lainnya yang disebabkan karena kerusakan sel atau kelainan pada fungsi sel. Hal ini tidak terjadi pada sel kanker yang bersifat "*immortal*" dimana sel-sel tersebut tidak mengalami kematian fisiologis (21).

### 2.2.1. Epidemiologi dan Prevalensi Kanker

Kematian akibat kanker merupakan penyebab kedua kematian akibat penyakit setelah penyakit kardiovaskular. Berdasarkan data statistik kanker

global, *Global Cancer Incidence Mortality and Prevalence* (GLOBOCAN), pada tahun 2018 diperkirakan terjadi 18,1 juta kasus kanker baru di seluruh dunia dengan 9,6 juta kematian. Terjadi peningkatan dibandingkan tahun 2012 dimana terdapat 14,1 juta kasus baru dengan 8,2 juta kematian (22). Data terbaru dilaporkan tahun 2020 dimana insiden kanker terus muncul di seluruh dunia dengan lebih dari 19,3 juta kasus kanker baru didiagnosis dan dilaporkan dan menyebabkan sekitar 10 juta kematian. Terlihat terjadi peningkatan kasus baru yang didiagnosa dan kematian setiap tahunnya. GLOBOCAN merupakan kumpulan data tentang kejadian kanker dan kematian dari 185 negara dalam data regional yang berbasis jenis kelamin. Pelaporan kasus terbanyak berasal dari Asia Timur yaitu 6,0 juta (31,1% dari total kasus) dengan 3,6 juta kematian (36,3%). Eropa melaporkan 4,4 juta kasus dengan 1,9 juta (20%) kematian. Amerika Utara melaporkan 2,6 juta kasus (13,3%) dengan 7% kematian, sementara Asia Tengah Selatan mencatat 1,95 juta kasus (10%) dengan 1,3 juta (12,6%) kematian (3).

Amerika Serikat memperkirakan jumlah total pasien yang didiagnosis menderita kanker pada tahun 2019 adalah 1.762.450 (1,7 juta), yang menunjukkan 4.800 kasus yang terdiagnosis per hari dengan hampir 1.700 kematian (1). Tahun 2012 di Indonesia, berdasarkan data patologi anatomi, mencatat terjadi sekitar 12,7% kasus (23). Hal tersebut juga ditunjukkan dari data yang dicatat oleh Kementerian Kesehatan RI yang menunjukkan penderita kanker di Indonesia 1,4% dari jumlah total 347.792 orang penderita (3).

### **2.2.2. Mekanisme terjadinya Kanker**

Kanker ditandai dengan ketidakstabilan genetik yang menyebabkan banyak mutasi dan perubahan struktural yang terjadi dalam proses perkembangan tumor. Respon imun yang efektif dapat memberantas sel-sel ganas atau merusak fenotipe dan fungsinya. Namun, sel-sel kanker telah mengembangkan berbagai mekanisme, seperti kerusakan pada mesin presentasi antigen, peningkatan regulasi jalur regulasi negatif, dan perekrutan populasi sel immunosupresif untuk menghindari sistem imun, sehingga mengakibatkan terhambatnya fungsi efektor sel imun dan hilangnya respon imun antitumor (24).

Berikut tahapan dalam proses perkembangan kanker, yaitu:

a. Inisiasi

Proses inisiasi dimulai ketika terjadi mutasi gen yang muncul secara spontan atau terjadinya paparan agen karsinogen. Perubahan genetik dapat terjadi dan mengakibatkan disregulasi jalur sinyal biokimia yang terkait dengan proliferasi, kelangsungan hidup, dan diferensiasi sel. Hal tersebut dapat dipengaruhi oleh sejumlah faktor, termasuk kecepatan dan jenis metabolisme karsinogenik serta respons fungsi perbaikan DNA (25).

b. Promosi

Tahap promosi merupakan proses yang relatif panjang dan reversibel dimana sel-sel preneoplastik yang berproliferasi secara aktif akan terakumulasi. Dalam periode ini, proses tersebut dapat diubah oleh agen kemopreventif dan mempengaruhi tingkat pertumbuhan (25).

c. Progresi

Progresi merupakan tahap akhir dari transformasi neoplastik, di mana terjadi perubahan genetik dan fenotipik serta proliferasi sel. Dalam proses ini terjadi peningkatan secara cepat ukuran tumor dan sel dapat mengalami mutasi lebih lanjut dengan potensi invasif dan metastasis (25).

d. Metastasis

Metastasis merupakan penyebaran sel kanker dari lokasi utama ke bagian tubuh lain melalui aliran darah atau sistem getah bening. Angiogenesis dan invasi tumor primer dapat dihambat oleh gen kemopreventif, sehingga dapat digunakan untuk menghambat metastasis kanker lebih lanjut (25).

### 2.2.3. Karakteristik Sel Kanker

Tumor terdiri dari sel kanker dan sel stroma. Sel kanker adalah sel ganas yang tidak mengalami diferensiasi dan sel stroma adalah sel tidak ganas yang mengelilingi sel kanker. (26).

Beberapa karakteristik yang dimiliki oleh sel kanker, sebagai berikut:

a. Mempertahankan sinyal proliferaatif

Pada jaringan normal produksi dan pelepasan sinyal pemacu pertumbuhan, yang menginstruksikan mulainya siklus sel, dikontrol dengan hati-hati sehingga homeostasis dapat terjadi dan mempertahankan arsitektur serta fungsi jaringan normal. Namun, pada sel kanker memiliki kemampuan untuk mempertahankan proliferasi kronis. Sel kanker akan menderegulasi sinyal-sinyal tersebut, mengontrolnya sendiri, dan memperoleh kemampuan untuk mempertahankan sinyal proliferasi melalui cara seperti, memproduksi ligan faktor pertumbuhan sendiri, yang dapat direspon melalui ekspresi reseptor *cognate*. Pensinyalan reseptor juga dapat dideregulasi dengan meningkatkan kadar protein reseptor yang ditampilkan pada permukaan sel kanker, menjadikan sel tersebut sangat responsif terhadap jumlah ligan faktor pertumbuhan (27).

b. Menghindari *growth suppressors* (Penekan pertumbuhan)

Tumor suppressor gen (TSG) bekerja dengan berbagai cara untuk membatasi pertumbuhan dan proliferasi sel dengan cara mengkode protein RB (retinoblastoma) dan TP53. Kedua protein ini sebagai simpul kendali pusat dalam pengaturan seluler utama yang saling melengkapi dalam mengatur keputusan sel untuk berkembang biak, mengaktifkan program penuaan, dan apoptosis. PRB akan mengintegrasikan sinyal dari beragam sumber ekstraseluler dan intraseluler, kemudian akan memutuskan apakah suatu sel harus melanjutkan siklus pertumbuhan dan pembelahannya atau tidak. Sedangkan pTP53 akan menerima sensor stres dan kelainan dalam sistem operasi intraseluler sel, jika terjadi kerusakan berlebihan seperti pada sinyal pemacu pertumbuhan, glukosa, atau oksigenasi kurang optimal, pTP53 dapat menghentikan perkembangan siklus sel lebih lanjut hingga kondisi ini menjadi normal. Sel-sel kanker dengan cacat pada fungsi jalur pRB dan pTP53 akan kehilangan sistem penjaga dari perkembangan siklus sel yang menyebabkan proliferasi sel yang persisten dan terus menerus (27).

c. Menginduksi angiogenesis

Pada manusia proses angiogenesis diaktifkan, namun hanya bersifat sementara sebagai bagian dari proses fisiologis seperti pada penyembuhan luka dan siklus reproduksi wanita. Sebaliknya, selama perkembangan tumor, “saklar angiogenik” selalu aktif dan menyebabkan pembuluh darah yang biasanya diam terus menumbuhkan pembuluh darah baru dan mempertahankan perluasan pertumbuhan neoplastik. Proses Neovaskularisasi tumor ini digunakan untuk mencari makanan dalam bentuk nutrisi dan oksigen serta kemampuan untuk mengevakuasi sisa metabolisme dan karbon dioksida. Neovaskularisasi tumor ditandai dengan pertumbuhan kapiler yang terlalu dini, percabangan pembuluh darah yang berbelit-belit dan berlebihan, pembuluh darah yang terdistorsi dan membesar, aliran darah yang tidak menentu, pendarahan mikro, kebocoran, dan tingkat proliferasi dan apoptosis sel endotel yang abnormal (27).

d. Mengaktifkan invasi dan metastasis

Pasien memiliki tingkat kelangsungan hidup lima tahun lebih rendah dengan kanker yang sudah bermetastasis dibandingkan dengan pasien kanker lokal. Metastatik adalah proses dinamis dimana sel-sel normal berubah menjadi sel-sel onkogenik yang membentuk pertumbuhan kanker di organ lain yang lebih jauh (28). Karsinoma yang berasal dari jaringan epitel berkembang menjadi tingkat keganasan patologis yang lebih tinggi yang terlihat dalam invasi lokal dan metastasis jauh. Perubahan karakteristik terjadi dengan hilangnya E-caderin oleh sel-sel karsinoma, yaitu molekul adhesi antar sel yang penting. E-cadherin membantu mengikat lembaran sel epitel dan menjaga kestabilan sel di dalam lembaran tersebut. Penurunan fungsi dan mutasi E-cadherin pada karsinoma manusia memberikan kemampuan invasi dan metastasis sel kanker (27).

e. Mengaktifkan replikatif immortal (Abadi)

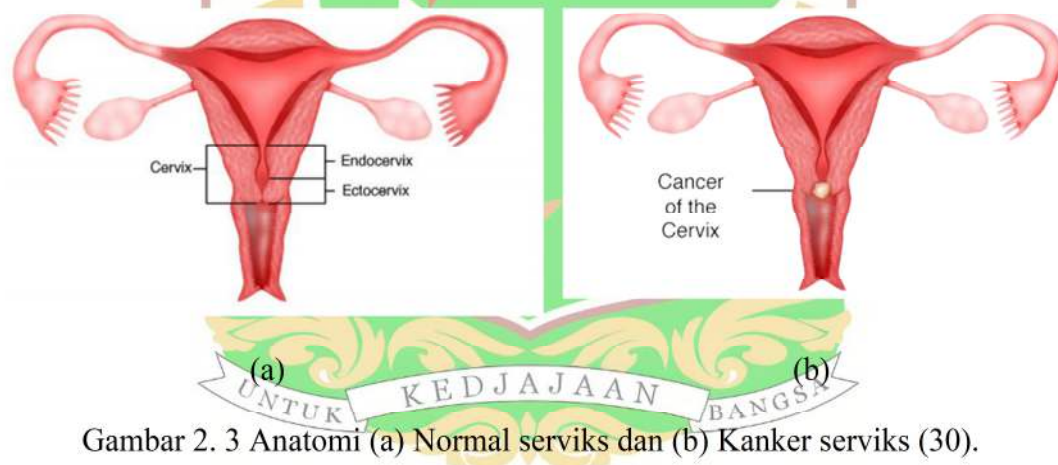
Sel kanker memiliki potensi replikasi yang tidak terbatas untuk menghasilkan tumor makroskopis. Penyebab replika tidak terbatas ini yaitu telomer yang melindungi ujung kromosom yang terlibat secara sentral dalam kemampuan proliferasi tanpa batas sel kanker. Pada sel normal pemendekan telomer terjadi untuk membatasi potensi replikasi sel, namun hal ini tidak terjadi

pada sel kanker. Abadinya sel-sel yang kemudian membentuk tumor dikaitkan dengan kemampuan untuk mempertahankan DNA telomer dalam jangka waktu yang lama untuk menghindari penuaan atau apoptosis (27).

## 2.3.Kanker Serviks

### 2.3.1. Serviks

Serviks merupakan bagian paling bawah rahim memiliki struktur berbentuk silinder yang terdiri dari stroma dan epitel. Bagian intravaginal, ektoserviks menonjol ke dalam vagina dan dilapisi oleh epitel skuamosa. Kanalis endoserviks terbentang dari ostium interna pada persimpangan uterus hingga ostium eksterna yang bermuara ke dalam vagina dan dilapisi oleh epitel kolumnar. Kebanyakan kasus karsinoma serviks berasal dari zona transformasi mukosa ektoserviks dan endoserviks (29).



Gambar 2. 3 Anatomi (a) Normal serviks dan (b) Kanker serviks (30).

### 2.3.2. *Human Papillomavirus (HPV)*

*Human papillomavirus* adalah virus DNA beruntai ganda kecil yang menginfeksi sel-sel di lapisan basal epitel yang terpapar akibat luka mikro kecil. Hampir semua kanker serviks yaitu sekitar >99% berhubungan dengan infeksi HPV resiko tinggi. Jenis virus berisiko tinggi ditentukan oleh sifat biologis unik dimana virus memiliki kemampuan bawaan untuk mengendalikan proliferasi dan pemeliharaan stabilitas genom. Sedangkan, infeksi oleh HPV resiko rendah

biasanya menyebabkan lesi jinak yang dapat sembuh dengan sendirinya. Infeksi akan hilang dalam waktu 2 tahun, namun ketika infeksi yang terus-menerus dan sistem kekebalan gagal melawan HPV yang kemudian dapat menyebabkan perkembangan penyakit serviks. Sebanyak 80% kasus kanker serviks disebabkan oleh jenis HPV 16 dan HPV 18. Keganasan HPV disebabkan oleh ekspresi E6 dan E7. Penghambatan ekspresi atau fungsi E6 dan/atau E7 akan menyebabkan terhentinya pertumbuhan sel kanker sehingga ini sering digunakan sebagai target terapi (2).

Siklus hidup HPV dimulai dengan infeksi sel basal epitel skuamosa, yang merupakan satu-satunya sel yang berkembang biak di epitel normal. HPV kemudian menetapkan genomnya sebagai elemen ekstrakromosomal atau episom dan akan bergantung pada protein replikasi seluler untuk memediasi sintesis DNA virus. Sel suprabasal HPV tetap berada dalam siklus sel dan sebagian sel akan masuk kembali ke fase S sehingga memungkinkan replikasi genom HPV yang dikenal sebagai amplifikasi. Kemudian, sintesis protein kapsid dan perakitan virion terjadi hingga dilepaskannya partikel virus baru yang menular. Sel-sel yang terus-menerus terinfeksi HPV akan mengalami siklus sintesis DNA berulang-ulang yang disertai terjadinya gangguan jalur pengawasan terhadap kerusakan DNA. Gangguan jalur pengawasan dilakukan untuk mengatasi respon imun inang, termasuk penekanan imunitas bawaan, penekanan fungsi efektor sel T, dan hilangnya ekspresi antigen leukosit manusia (HLA). Kegagalan sistem kekebalan tubuh dalam mengatasi infeksi HPV dalam waktu yang lama akan berkembang menjadi kanker serviks (2).

### **2.3.3. Epidemiologi Kanker Serviks**

Kanker serviks adalah kanker yang paling sering didiagnosa di 23 negara dan merupakan penyebab utama kematian akibat kanker di 36 negara (1). Selama 30 tahun terakhir terjadi peningkatan sekitar 10% - 40% wanita terkena kanker serviks. Pada tahun 2008 terdapat 529.000 kasus baru kanker serviks secara global. Sebanyak 452.000 kasus terjadi pada negara berkembang menurut WHO dan *International Agency for Research on Cancer* (IARC). Tahun 2018 diperkirakan terjadi 570.000 kasus dan 311.000 kematian yang terjadi di seluruh



dunia dengan kanker serviks menempati urutan keempat terbanyak yang sering didiagnosa dan penyebab kematian kanker pada wanita (31). Pada tahun 2020 diperkirakan 604.000 kasus baru dan 342.000 kematian terjadi di seluruh dunia (1).

Negara terbelakang atau berkembang menjadi penyumbang tingkat kematian tertinggi yaitu sekitar 85% di seluruh dunia (31). Sebagian besar ditemukan di Afrika sub-Sahara, Melanesia, Selatan Amerika, dan Asia Tenggara dengan angka kematian regional tertinggi terjadi di Afrika Sub Sahara yaitu di Malawi yang menempati angka kejadian dan kematian tertinggi di dunia. Kemudian, dilanjutkan dengan negara Afrika Selatan dan Afrika Tengah. Angka kejadian lebih rendah tujuh hingga sepuluh kali terjadi di Amerika Utara, Australia atau Selandia Baru, dan Asia Barat yaitu di Arab Saudi dan Irak (1).

Di Indonesia Kementerian Kesehatan RI tahun 2021 mencatat terjadi kasus kanker payudara sebanyak 42,1 per 100.000 penduduk dengan angka kematian mencapai 17 per 100.000. Kemudian kanker serviks diangka 23,4 per 100.000 kejadian dengan 13,9 per 100.000 kematian. Skrining kanker rutin yang direkomendasikan WHO terbukti meningkatkan harapan hidup pasien kanker, namun jarang dilakukan di Indonesia sebagai negara berkembang. Kurangnya sumber daya yang dibutuhkan dalam skrining kanker menjadi alasan terbatasnya pelayanan kesehatan di Indonesia. Pola kejadian kanker di Indonesia berbeda-beda setiap provinsinya. Prevalensi kanker tertinggi yaitu Daerah Istimewa Yogyakarta sebesar 4,86 per 1.000 penduduk, diikuti Sumatera Barat sebesar 2,47 per 1.000 penduduk, dan Gorontalo dengan kasus 2,44 per 1.000 penduduk (4).

#### **2.3.4. Etiologi Kanker Serviks**

Penyebab utama kanker serviks yaitu infeksi oleh HPV (*Human Papillomavirus*). Menurut data dari *American Cancer Society*, HPV yang dapat menginfeksi terdiri dari tiga belas tipe HPV yang berisiko tinggi yakni 55,4% disebabkan oleh HPV tipe 16 dan 14,6% oleh HPV tipe 18. Sedangkan HPV tipe 45 dan 33 memiliki persentase rendah yaitu 4,8% dan 3,9%. HPV jenis lainnya yang menjadi penyebab kanker serviks adalah HPV-31, HPV-35, HPV-39, HPV-51, HPV-52, HPV-56, HPV-58, HPV-59, dan HPV-68 (32).

Menurut risiko dalam menyebabkan kanker serviks HPV dibagi dalam dua kelompok, yaitu sebagai berikut:

- a. Risiko rendah : Tipe non-onkogenik, jika terinfeksi hanya menimbulkan lesi jinak berupa kutil di dalam atau di sekitar alat kelamin dan anus baik perempuan maupun laki-laki. Pada wanita mungkin juga muncul kutil di leher rahim dan di dalam vagina. HPV jenis genital ini jarang sekali menyebabkan kanker. Tipe HPV ini adalah HPV-6, HPV-11, HPV-42, HPV-43, HPV-44, HPV-54, HPV-61, HPV-70, HPV-72, HPV-81 (33).
- b. Risiko tinggi : Tipe onkogenik, jika terinfeksi dan tidak mendapatkan pengobatan segera akan menjadi kanker. Jenis HPV yang tergolong tipe ini adalah HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV- 33, HPV-35, HPV-39, HPV-45, HPV-51, HPV-52, HPV-56, HPV-58, HPV-59, HPV-68, HPV-73, dan HPV-82. Ketika HPV risiko tinggi menetap dan menginfeksi sel-sel vulva, vagina, anus, atau orofaring, dapat menyebabkan perubahan sel atau prakanker yang kemudian menjadi kanker (33).

### 2.3.5. Faktor Risiko Kanker Serviks

Faktor risiko terjadinya kanker serviks erat kaitannya dengan infeksi HPV dan reaksi imunologi terhadap HPV, diantaranya penggunaan immunosupresi setelah transplantasi organ atau terjadinya gangguan imunodefisiensi. Memiliki riwayat infeksi menular seksual menjadi faktor risiko terkena kanker serviks. Selain itu, melakukan hubungan seksual dini dan berganti-ganti pasangan seksual akan memberikan risiko tinggi (34).

- a. HPV (*Human Papillomavirus*)

Prevalensi HPV terjadi pada usia 25 tahun bisa dikaitkan dengan terjadinya perubahan perilaku seksual. Infeksi ini biasanya ditularkan melalui kontak seksual, menyebabkan lesi intraepitel skuamosa. Lesi biasanya akan hilang setelah 6–12 bulan karena intervensi imunologi, namun infeksi permanen yang terjadi oleh salah satu jenis HPV berisiko tinggi dari waktu ke waktu akan berkembang menjadi *Cervical Intraepithelial Neoplasia* (CIN). HPV akan berkontribusi terhadap timbulnya karsinoma dengan keterlibatan aktivitas dua

onkoprotein virus yaitu E6 dan E7. Protein ini akan mengganggu tumor suppressor gen, P53, dan RB serta mempengaruhi perubahan DNA inang sehingga terjadi perubahan jalur seluler utama yang mengatur integritas genetik, adhesi sel, respon imun, apoptosis, dan kontrol seluler (31).

b. HIV (*Human Immunodeficiency Virus*)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang hubungan HIV dan kanker serviks, menunjukkan tingkat infeksi HPV persisten yang lebih tinggi karena beberapa virus onkogen. Hasil menunjukkan perempuan yang terinfeksi HIV dapat meningkatkan risiko tertular HPV pada usia dini yaitu usia 13–18 tahun dan berisiko tinggi terkena kanker serviks. Dibandingkan dengan perempuan yang tidak terinfeksi HIV positif dengan kanker serviks (31).

c. Pasangan seksual

Hasil penelitian menemukan bahwa peningkatan risiko kanker serviks dapat terjadi pada wanita dengan banyak pasangan seksual dibandingkan dengan wanita dengan sedikit pasangan, baik dalam penyakit serviks non-ganas ataupun kanker serviks. Selain itu, usia dini saat pertama kali berhubungan intim juga berisiko terkena kanker serviks (31).

d. Pil kontrasepsi oral

Risiko relatif penggunaan kontrasepsi oral dengan durasi penggunaan yang panjang diketahui menjadi faktor risiko kanker serviks. Penggunaan pil selama 5 tahun atau lebih meningkatkan risiko kanker serviks berlipat ganda yang terdapat dalam studi *international collaborative epidemiological*. Selain itu, berdasarkan sistematik review dan meta analisis juga menunjukkan bahwa penggunaan pil memiliki risiko terkait yang pasti untuk berkembangnya adenokarsinoma dan pil kontrasepsi menjadi faktor risiko independen dalam menyebabkan kanker serviks (31).

### 2.3.6. Patofisiologi Kanker Serviks

Kanker serviks menunjukkan perkembangan pertama kali sebelum menjadi sel kanker pada lesi prakanker (dikenal secara luas sebagai displasia 1)

yang kemudian berkembang menjadi displasia ringan, menengah, hingga parah. Mekanisme dimulai dengan terjadinya penebalan pada sel serviks, terjadi integrasi genom dan aktivasi onkogen yang menyebabkan perubahan sel prakanker menjadi kanker serviks. Onkoprotein virus yang berperan dalam regulasi ini adalah E6 dan E7. Protein E6 mampu menyebabkan terjadinya degradasi protein penghambat tumor (p53) yang sebabkan protein ini tidak aktif dan proses apoptosis tidak terjadi. Protein E6 juga menyebabkan terjadinya induksi ekspresi dan aktivasi telomerase yang sebabkan sel kanker tidak mati dan tumbuh abnormal. Ukuran protein ini relatif kecil berkisar antara 150 asam amino (32).

Protein E7 mengikat dan menonaktifkan pRb yang berperan dalam mengatur siklus sel dan mencegah proliferasi sel yang tidak terkendali. Protein E6 dan E7 bekerja sama mengganggu proses seluler normal dalam siklus sel dengan berinteraksi dengan *c-myc* dan mengaktifkan hTRET yang mengganggu transformasi seluler, apoptosis, dan proliferasi sel sehingga sel menjadi abadi. Protein ini juga berinteraksi dengan protein seluler lainnya yang terlibat dalam regulasi siklus sel, ekspresi gen, dan perbaikan DNA (32).

### **2.3.7. Gejala Kanker Serviks**

Sesuai dengan karakteristik sel kanker, pada kanker serviks juga tidak menunjukkan gejala di awal dan dapat terdeteksi setelah dilakukan pemeriksaan rutin atau pemeriksaan panggul. Gejala umum yang dapat dialami penderita yaitu terjadinya pendarahan pada vagina yang tidak normal, terjadi keputihan dengan bau busuk dalam jumlah banyak. Invasi yang terjadi pada dinding samping panggul yang menunjukkan gejala edema ekstremitas bawah, nyeri pada panggul dan merasakan linu pada panggul. Invasi ke kandung kemih menyebabkan keluarnya urin melalui vagina (fistula vesikovaginal) dan terjadinya invasi ke rektum menunjukkan keluarnya feses melalui vagina (fistula rektovaginal) (34).

### **2.3.8. Stadium Kanker Serviks**

Pada kanker serviks, serviks akan tampak normal jika penyakitnya bersifat mikroinvasif atau berada pada saluran endoserviks, namun gejala mulai akan tampak dan semakin parah ketika bermetastasis melalui pembuluh limfatik

kelenjar getah bening panggul, mediastinum, supraklavikula, dan inguinalis. Penegakkan diagnosis dilakukan dengan penilaian histopatologis dari biopsi serviks. Pemeriksaan panggul, visualisasi serviks, mukosa vagina, dan sitologi serviks juga perlu dilakukan. Adanya invasi tanpa lesi ditemukan maka kolposkopi dan biopsi harus dilakukan (34). *Federation of Gynecology and Obstetrics* umumnya digunakan dalam pengklasifikasian stadium kanker serviks, terdiri dari stadium I-IV (7).

Tabel 2. 1 Stadium kanker serviks oleh FIGO (7).

Stadium FIGO	Definisi
0	Sel abnormal ditemukan pada lapisan dalam serviks, sel ini akan menyebar ke jaringan normal di sekitar yang dikenal dengan nama <i>Carcinoma in situ</i> (CIS).
I	Karsinoma serviks terbatas pada area serviks (ekstensi ke korpus harus diabaikan).
IA	Invasi hanya didiagnosis melalui mikroskop dengan kedalaman invasi maksimum <5 mm.
IA1	Invasi stroma terukur dengan kedalaman <3 mm.
IA2	Invasi stroma terukur lebih dari $\geq 3$ mm dan kedalaman <5 mm.
IB	Lesi terlihat secara klinis terbatas pada serviks atau lesi mikroskopis lebih besar dari IA2.
IB1	Karsinoma invasif $\geq 5$ mm kedalaman invasi stroma, dan <2 cm dalam dimensi yang lebih besar.
IB2	Karsinoma invasif $\geq 2$ cm dan <4 cm dalam dimensi yang lebih besar.
IB3	Karsinoma invasif $\geq 4$ cm dalam dimensi yang lebih besar.
II	Karsinoma serviks menyerang di luar rahim tetapi tidak ke dinding panggul atau sepertiga bagian bawah vagina.
IIA	Tumor tanpa invasi parametrial atau keterlibatan sepertiga bagian bawah vagina.
IIA1	Lesi yang terlihat secara klinis <4 cm dalam dimensi yang lebih

		besar dengan keterlibatan kurang dari dua pertiga bagian atas vagina.
	IIA2	Lesi yang terlihat secara klinis lebih dari 4cm dalam dimensi yang lebih besar dengan keterlibatan kurang dari dua pertiga bagian atas vagina.
IIB		Tumor dengan invasi parametrial tetapi tidak sampai ke dinding panggul.
III		Tumor meluas ke dinding panggul dan/atau melibatkan sepertiga bagian bawah vagina, dan/atau menyebabkan hidronefrosis atau ginjal yang tidak berfungsi, dan/atau melibatkan panggul dan/atau kelenjar getah bening paraaorta.
	IIIA	Tumor melibatkan sepertiga bagian bawah vagina, tidak ada ekstensi ke dinding panggul.
	IIIB	Tumor meluas ke dinding panggul dan/atau menyebabkan hidronefrosis atau ginjal yang tidak berfungsi.
	IIIC	Tumor melibatkan kelenjar getah bening panggul dan/atau para-aorta, terlepas dari ukuran dan luas tumor.
IV		Tumor menyerang mukosa kandung kemih atau rektum (biopsi terbukti), dan/atau melampaui panggul sejati.
	IVA	Tumor telah menyebar ke organ panggul yang berdekatan.
	IVB	Tumor telah menyebar ke organ yang jauh.

### 2.3.9. Pengobatan Kanker Serviks

Berdasarkan update terbaru dari *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) terapi kanker serviks yaitu pembedahan, radiasi, dan kemoterapi tunggal atau dalam kombinasi. Terapi juga ditentukan berdasarkan pertimbangan beberapa faktor, antara lain stadium kanker, apakah kanker sudah bermetastasis ke bagian tubuh lain, ukuran tumor, usia pasien dan kesehatan secara keseluruhan (7).

#### a. Pembedahan

Pembedahan adalah terapi awal dari umumnya kasus kanker serviks dengan lesi prakanker kecil CIS atau kanker serviks yang terdapat pada leher rahim stadium I. Pembedahan yang dapat dilakukan terdiri dari, operasi krio, operasi laser, *Loop Electrosurgical Excision Procedure* (LEEP), konisasi serviks, histerektomi, dan bilateral salpingo-ooforektomi. Trakelektomi (prosedur hemat kesuburan) dan histerektomi radikal dapat digunakan untuk lesi kanker serviks yang lebih besar (biasanya mencapai 4-5 cm). (7).

b. Radiasi (RT)

Radiasi dapat digunakan sebagai pengganti terapi pembedahan, atau sebagai terapi tambahan setelah pembedahan. Jenis radiasi yang dapat digunakan untuk mengobati kanker serviks diantaranya, RT eksternal, termasuk *Intensity-Modulated Radiotherapy* (IMRT), dan internal RT (brakiterapi). Terapi radiasi dipakai juga ketika lesi yang sudah sangat besar (lebih besar dari 4 cm) atau kanker serviks yang bermetastasis. Biasanya terapi radiasi dikombinasi dengan kemoterapi (7).

c. Kemoterapi

Kemoterapi mengambil peran yang lebih besar sebagai pengobatan definitif untuk kanker serviks. Berbagai regimen terapi kemoterapi telah dievaluasi dan tercatat memiliki tingkat efektivitas dan respon yang tinggi pada kondisi metastasis atau penyakit berulang yang sebelumnya telah diobati dengan RT. Kanker serviks yang didiagnosis stadium I-IB2 atau lebih tinggi, cisplatin atau kombinasi cisplatin dengan kemoterapi fluorouracil dapat diberikan bersamaan dengan RT sebagai *radiosensitizer* untuk membantu efektivitas radiasi (7).

d. Imunoterapi

Imunoterapi merupakan terapi menggunakan obat-obatan yang merangsang sistem kekebalan tubuh untuk mengenali dan menghancurkan sel kanker. Sistem kekebalan tubuh memiliki molekul yang juga dikenal sebagai “*checkpoints*/pos pemeriksaan”, untuk menghidupkan atau menonaktifkan respons

imun. Sel kanker sering kali menggunakan *checkpoint* ini untuk menghindari serangan sistem imun, namun obat-obatan baru telah mampu menargetkan ini untuk membantu melawan kanker. *Immune check point inhibitor* pertama adalah pembrolizumab yang telah mendapat persetujuan dipercepat oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat pada 12 Juni 2018 untuk terapi pada wanita dengan kanker serviks stadium lanjut yang berulang dan tidak dapat dioperasi atau sudah bermetastasis (7).

### 2.3.10. Pencegahan Kanker Serviks

#### a. Pencegahan primer

Upaya pencegahan utama yang dilakukan agar terhindar dari kanker serviks adalah menghindari faktor utama penyebab kanker, yaitu infeksi HPV. Pencegahan primer yang efektif dilakukan dengan vaksinasi HPV. vaksinasi profilaksis dilakukan untuk menetralkan antibodi terhadap serotipe HPV onkogenik spesifik yang mampu mencegah infeksi serviks pada individu yang belum pernah terpapar HPV. Saat ini terdapat tiga jenis vaksin yang dapat melindungi terhadap serotipe HPV 16 dan 18 yang disetujui yaitu vaksin HPV bivalen (Cervarix®), quadrivalen (Gardasil®), dan nonavalen (Gardasil-9®) (35).

#### b. Pencegahan sekunder

Kanker serviks memiliki karakteristik berupa fase praklinis yang panjang dan dapat berlangsung selama beberapa dekade tanpa menimbulkan efek gejala pada wanita. Sehingga, skrining tes merupakan langkah yang efektif untuk mendeteksi lesi prakanker sebelum berkembang terhadap kanker invasif. Alat skrining standar yang ditemukan tahun 1940 yaitu *Papanicolaou (Pap) cytology-based* atau pap tes yang digunakan untuk mengidentifikasi sel serviks yang abnormal (35).

### 2.4. Cell Lines

*Cell lines* adalah sistem model *in vitro* yang banyak digunakan dalam penelitian dan penemuan obat kanker. Sel ini memiliki manfaat dalam menyediakan sumber bahan biologis yang tidak terbatas dan dapat digunakan



untuk tujuan percobaan. Sejarah penelitian kanker sangat erat hubungannya dengan pembentukan garis sel. Teknik kultur jaringan hidup mulai dikembangkan pada awal abad ke-20 yang dilaporkan oleh Harrison. Sejak saat itu, penemuan ini dianggap sebagai tonggak sejarah dalam penelitian bidang biomedis karena untuk pertama kalinya menunjukkan bahwa mungkin untuk melakukan “Pertumbuhan sel di luar tubuh” (36).

Sel HeLa merupakan contoh pertama dari “Sel kanker manusia dalam tabung reaksi”. Beberapa tahun setelah pembentukan garis sel HeLa, di Universitas Ibadan di Nigeria, Robert James Valentine Pulvertaft membuat garis sel baru dari seorang pasien Nigeria yang terkena limfoma burkitt yaitu garis sel RAJI, garis sel hematopoietik berkelanjutan manusia yang pertama. Garis sel NB4 telah menjadi dasar untuk memahami proses asam retinoat pada gen fusi PML-RAR alfa yang dibawa oleh sel promielositik ganas (36).

Tabel 2. 2 Beberapa *cell lines* bersejarah dalam penelitian kanker (36).

Cell line	Tahun Stabilisasi	Manfaat dalam Kesehatan
HeLa	1953	Pengembangan vaksin anti-polio
RAJI	1964	Mekanisme infeksi virus Epstein-Barr
K562	1976	Pengembangan protokol pengobatan untuk leukemia myeloid kronis
NB4	1991	Pengembangan protokol pengobatan untuk leukemia promyelocytic akut

## 2.5.Sel Kanker Serviks HeLa

Biospesimen manusia memainkan peran penting dalam kemajuan ilmiah dan medis yang dimanfaatkan dalam penelitian untuk mewujudkan tujuan pengobatan. Penemuan dari penelitian biospesimen ditargetkan untuk mendeteksi dan mengobati kondisi kesehatan, serta mengurangi risiko penyakit di masa depan. Penelitian onkologi menggunakan biospesimen membantu dalam

menjelaskan mekanisme molekuler yang menyebabkan terjadinya kanker dan menghasilkan pengetahuan baru (37).

Teknik kultur sel dan jumlah *cell lines* yang tersedia saat ini telah berkembang pesat sejak garis sel pertama HeLa dibuat. Pada tahun 1953 kultur sel kanker serviks pertama kali dilakukan menggunakan sel adenokarsinoma serviks Henrietta Lacks yang memberikan intervensi besar dalam dunia penelitian dunia (21). Henrietta Lacks, seorang wanita berusia 30 tahun campuran Afrika dan Amerika dengan lima anak, didiagnosis menderita bentuk agresif yang luar biasa dari kanker serviks di Rumah Sakit Johns Hopkins (37). Kultur sel pertama ini dinamakan HeLa yang berasal dari inisial namanya (21). Sel HeLa merupakan *cell lines* adenokarsinoma endoserviks pertama yang bertahan hidup di luar tubuh manusia dan dapat tumbuh pada suatu media pertumbuhan. Sel ini menunjukkan ketahanan dan fleksibilitas yang tinggi sebagai aplikasi penemuan obat, penelitian tentang virus, dan penelitian kanker (38). *Cell lines* yang dihasilkan juga sangat bagus digunakan untuk penelitian kanker karena modifikasi keganasannya berupa pembelahan yang abnormal dan ketidakstabilan kromosom (21).

## 2.6. Kultur Sel

Studi tentang mekanisme pembentukan, fungsi, dan patologi jaringan dan organ sebagian besar dapat dianalisis dengan sistem kultur sel dan model hewan. Harrison merupakan orang yang pertama kali melakukan kultur sel pada tahun 1907, dengan melakukan penelitian tentang asal usul serabut saraf. Sejak saat itu, metode ini telah mengalami perkembangan dan digunakan untuk mengamati pertumbuhan dan diferensiasi sel di luar tubuh. Studi menggunakan kultur sel memungkinkan untuk memahami biologi sel, morfologi jaringan, mekanisme penyakit, kerja obat, produksi protein dan perkembangan rekayasa jaringan. Metode ini sering digunakan dalam penelitian praklinis banyak obat, pada penelitian kanker, dan dalam studi tentang fungsi gen. Memilih metode kultur sel yang paling tepat dalam bidang penelitian kanker memungkinkan lebih memahami biologi tumor, sehingga dapat mengoptimalkan radioterapi dan kemoterapi, atau bahkan menemukan strategi pengobatan baru. Percobaan kultur sel dapat dilakukan dengan menggunakan sel primer yang diisolasi langsung dari

pendonor atau menggunakan kultur yang disimpan di bank sel. Kultur primer diisolasi dari organisme hidup dan biasanya mengandung populasi tipe sel berbeda yang ada di jaringan sumber (39).

Jenis kultur sel yang berkembang sekarang yaitu model 2D dan 3D. Penggunaan metode budidaya sel dilakukan sesuai dengan jenis kultur sel yang dipilih dan sesuai dengan perilaku sel (39).

#### a. Kultur 2D

Pada kultur 2D sel tumbuh sebagai lapisan tunggal dalam labu kultur atau dalam cawan petri datar, yang ditempelkan pada permukaan plastik. Jenis kultur ini memiliki banyak kelemahan diantaranya, sel yang dikultur 2D tidak memiliki struktur alami jaringan atau tumor dimana interaksi sel sel dan lingkungan ekstraseluler tidak mempresentasikan seperti pada massa tumor. Morfologi jaringan sel berubah, begitu pula cara pembelahan sel. Perubahan morfologi sel dapat mempengaruhi fungsinya, pengorganisasian struktur di dalam sel, sekresi dan sinyal sel. Gangguan dalam interaksi sel dengan lingkungan eksternalnya menyebabkan sel-sel kehilangan polaritasnya, sehingga mengubah respons sel-sel tersebut terhadap berbagai proses seperti apoptosis dan migrasi sel. Disamping itu, budidaya sel ini memiliki keuntungan yang dikaitkan dengan pemeliharaan kultur sel yang sederhana dan murah serta kinerja uji fungsional (39).

#### b. Kultur 3D

Kultur sel 3D pertama dibuat oleh Hamburg dan Salmon pada tahun 1970-an yang dibuat dalam larutan agar-agar lembut. Konsep kultur ini didasarkan pada penciptaan struktur di mana sel membentuk berbagai lapisan dan struktur ini meniru ciri fisik dan biokimia dari massa tumor padat. Sel dari jaringan donor yang dikultur dalam struktur tiga dimensi multiseluler akan menghasilkan sel yang mirip jaringan induk dengan lebih akurat daripada kultur 2D. Pada kultur 3D morfologi dan polaritas sel dapat dipertahankan, hingga memperbaiki kekurangan sel sebelumnya yang dikultur dalam 2D. Metode ini memungkinkan dilakukannya penelitian biologi yang sederhana dan biaya rendah serta banyak digunakan sebagai model dalam studi, seperti analisis sel kanker (39).

## 2.7.Migrasi Sel

Kelainan genetik atau mutasi genetik mendasari sebagian besar kanker. Mutasi ini dapat mengubah sel normal menjadi sel kanker dengan memberikan sifat atau ciri khas baru pada sel tersebut, salah satunya yaitu kemampuan sel tumor untuk menyerang dan bermetastasis. Pada proses metastasis, sel-sel tumor meninggalkan situs primer dan menyebar ke seluruh tubuh, membentuk situs sekunder dan menyebabkan kegagalan organ (5). Proses metastasis dapat terjadi karena migrasi aktif sel kanker dari tumor primer melalui jalur limfatik atau pembuluh darah (40). Kemampuan migrasi ini sangat penting untuk memprediksi prognosis kanker dan kemampuan bertahan hidup penderita (41).

Kemampuan sel normal untuk bermigrasi sangat penting untuk fungsi fisiologis dalam pengawasan imun, penyembuhan luka, dan morfogenesis jaringan selama perkembangan. Namun, pada sel kanker melibatkan perubahan morfologi dan remodeling jaringan untuk membentuk jalur migrasi tanpa “sinyal berhenti” (28). Saat ini pola migrasi sel kanker diklasifikasikan menjadi migrasi sel tunggal dan migrasi sel kolektif, yang didasarkan pada morfologi sel yang bermigrasi dan parameter genetik molekuler (42):

### a. Migrasi sel individu/ tunggal

Menurut morfologi dan ekspresi molekuler yang berbeda, migrasi sel tunggal dibagi menjadi dua pergerakan yaitu mesenkim dan amoeboid. Kedua migrasi ini ditandai dengan hilangnya koneksi antar sel dan sel menyebar sebagai sel tunggal. Migrasi sel amoeboid merupakan mekanisme migrasi paling efisien dengan ciri pergerakan yang cepat (2-30 mm/menit), morfologi sel berbentuk bulat namun bisa berubah bentuk, interaksi antara sel dan matriks ekstraselulernya lemah, serta kurangnya adhesi antar selnya. Migrasi amoeboid ini memiliki kemiripan bergerak seperti organisme bersel tunggal *Dictyostelium discoideum*. Migrasi sel ini memiliki deformabilitas cepat yang efektif untuk menembus celah sempit matriks ekstraseluler. Deformabilitas ini dihasilkan dari reorganisasi kortikal aktin sitoskeleton, sehingga memungkinkan untuk sel bergerak. Perkembangan “bleb” berupa tonjolan pada membran sel ke struktur jaringan di sekitarnya juga memungkinkan penetrasi sel melalui celah sempit. Tonjolan

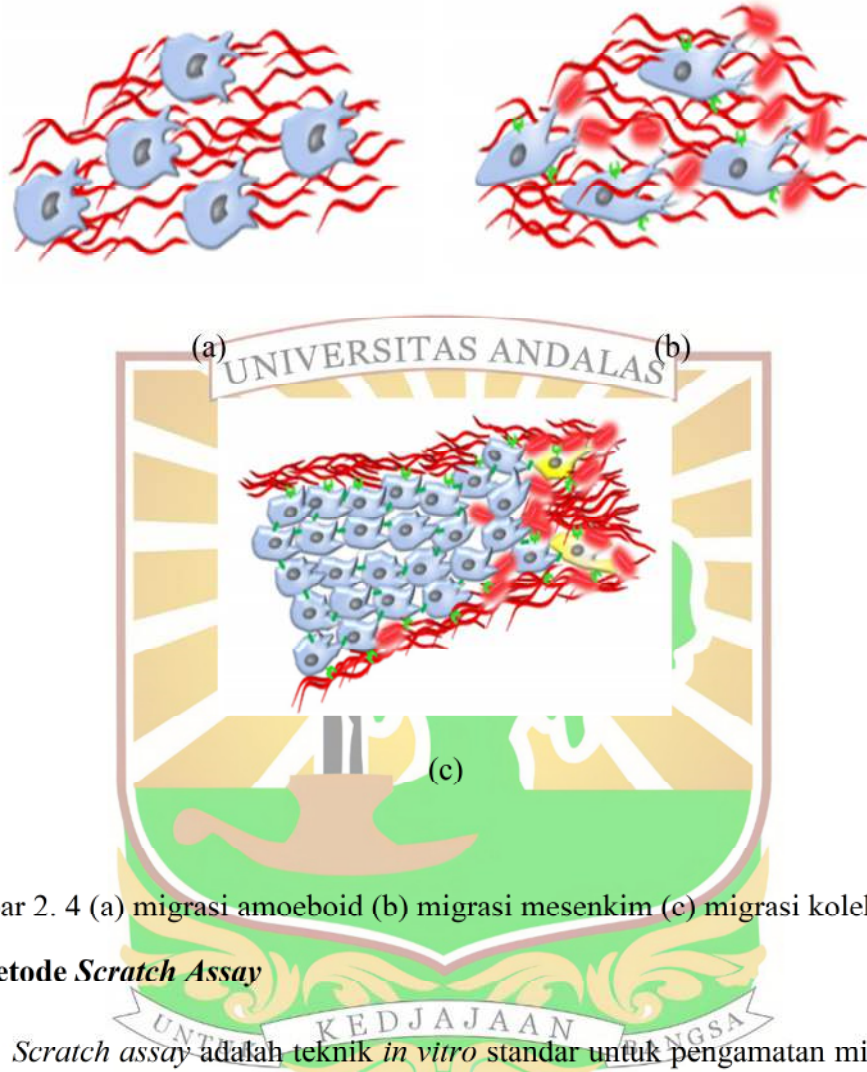
“bleb” dan dinamika kortikal aktin sitoskeleton ini diatur oleh GTPase RhoA serta efekturnya Rho associated kinase (ROCK) (42).

Migrasi sel tunggal selanjutnya adalah migrasi sel mesenkim yang memiliki pola pergerakan khas seperti fibroblas, sel endotel, dan sel otot polos. Secara histologi migrasi ini menunjukkan bentuk sel memanjang seperti gelendong dengan membentuk tonjolan pseudopoda dan filopodia. Pada sel kanker migrasi sel mesenkim sering ditemukan pada tumor yang berasal dari jaringan ikat dan sumsum tulang. Ciri khas migrasi ini ditandai kontraktilitas sitoskeleton, adhesi matriks ekstraseluler yang dimediasi integrin, dan degradasi proteolitik matriks di sekitarnya. Focal adhesi kinase (FAK) dan Src kinase mengontrol reorganisasi dan kontraktilitas sitoskeletal dengan menginduksi pembentukan adhesi dan kontak matriks ekstraseluler focal. Adhesi yang dimediasi integrin sangat penting untuk interaksi sel dengan matriks ekstraseluler, yang memainkan peran penting dalam pengenalan substrat, kemampuan perlekatan, dan pilihan arah. Domain ekstraseluler integrin pada lokasi adhesi dapat berikatan dengan ligan ekstraseluler, sehingga mentransmisikan sinyal dari luar ke dalam dan dari dalam ke luar yang penting bagi sel untuk menyesuaikan sitoskeletonnya, mempertahankan polaritas, dan mengarahkan migrasi sel (42).

#### b. Migrasi sel kolektif

Sejumlah besar bukti dalam patologi kanker manusia mengungkapkan bahwa sebagian besar kanker epitel menyerang secara kolektif. Migrasi sel kolektif ditandai dengan pergerakan kelompok multiseluler yang mempertahankan sambungan sel-sel serta polaritasnya. Unit multiseluler yang bermigrasi secara kolektif adalah kelompok sel tumor heterogen yang terpolarisasi menjadi “leading edge” atau “leading front” dan “trailing edge”. Sel pemimpin adalah sekelompok sel kanker di bagian depan unit multiseluler yang invasif dan sel ini jelas memiliki ekspresi gen dan morfologi yang berbeda serta kemampuan proliferasi, invasif, dan metastasis dibandingkan dengan sel pengikut. Sel pemimpin mengarahkan migrasi kelompok sel kanker dengan menjelajahi lingkungan jaringan sekitarnya melalui tonjolan yang digerakkan oleh Rac dan adhesi ECM yang dimediasi integrin. Migrasi sel-sel ini bergantung pada dinamika aktin, adhesi sel

ekstraseluler yang dimediasi integrin, dan reorganisasi matriks ekstraseluler yang dimediasi oleh proteolisis periseluler. Koneksi sel-sel distabilkan oleh cadherin (E-, N-, P-cadherin) (42).



Gambar 2. 4 (a) migrasi amoeboid (b) migrasi mesenkim (c) migrasi kolektif (42)

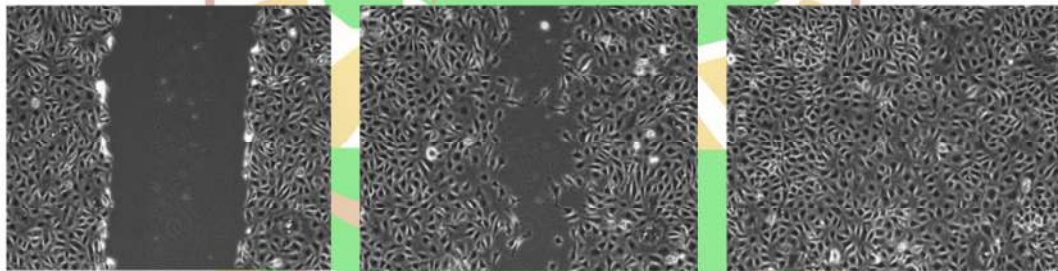
### 2.8. Metode *Scratch Assay*

*Scratch assay* adalah teknik *in vitro* standar untuk pengamatan migrasi sel dalam dua dimensi (42). Prinsip dasar dari uji ini adalah penghancuran lapisan tunggal sel konfluen yang menghasilkan daerah bebas sel sebagai tempat untuk migrasi dan perbaikan sel. Menghilangkan sel dari area tersebut dapat dilakukan melalui kerusakan mekanis, termal, atau kimia. Metode ini terdiri dari tiga langkah, dimulai dari cedera atau goresan pada sel, dilakukan pemantauan proses migrasi, kemudian dilakukan akuisisi dan evakuasi data (43).

Pada metode ini menggunakan media kultur sel dengan suplemen (serum, antibiotik), phosphate-buffered saline (PBS), bovine serum albumin (BSA), antibiotik, larutan tripsin-EDTA, dan poli-L-lisine. Proses dimulai dengan

preparasi untuk kultur sel yang dilakukan dengan melapisi cawan dengan substrat matriks ekstraseluler (ECM), lalu dilakukan inkubasi cawan selama 2 jam pada suhu 37°C atau semalaman. Pengujian *scratch assay* menggunakan pelat piringan 60 mm atau pelat multiwell dengan pelat 6, 12, atau 24 lubang. (44). Lapisan tunggal tersebut digores dengan ujung pipet dan migrasi ke dalam celah tersebut dicitrakan selama beberapa jam menggunakan *transmitted light microscope* yang dilengkapi untuk pencitraan sel hidup. Setelah itu, penginkubasian sel dan pengamatan migrasi sel dapat dilakukan (43).

Jenis migrasi sel kolektif yang diperiksa dengan metode ini dikenal sebagai *sheet migration* atau migrasi lembaran. Lapisan tunggal epitel dan endotel akan bergerak dalam dua dimensi sambil mempertahankan ikatan antar selnya. Migrasi lembaran terjadi dalam proses metastasis kanker. Uji *in vitro* ini sederhana dilakukan dan ekonomis untuk menilai dan mengukur migrasi sel dalam kondisi eksperimen sesuai dengan tujuan (44)



Gambar 2. 5 Proses *scratch wound healing* (45)

