

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cisplatin adalah salah satu obat antikanker yang paling banyak digunakan dan masih menjadi pilihan untuk terapi keganasan epitelial, seperti kanker testis, kanker ovarium, kanker servik, kanker paru, kanker retina, dan kanker kepala leher (Fernandez *et al.*, 2021). Meskipun memiliki hasil yang baik melawan kanker, ada pembatasan dalam penggunaan klinis karena efek samping yang serius seperti komplikasi gastrointestinal, neuropati perifer, nefrotoksik, toksisitas sumsum tulang, dan ototoksitas (Esen *et al.*, 2018).

Gangguan pendengaran akibat ototoksitas cisplatin masih menjadi masalah besar di bidang kedokteran, dikarenakan menjadi penyebab utama gangguan pendengaran pada pasien keganasan (Ramkumar, 2021). Insiden ototoksitas cisplatin di India, didapatkan 96,7% dari 91 pasien yang mendapatkan kemoterapi cisplatin akan mengalami *ototoxic hearing loss* (Paken, 2016). Survei Nasional Kesehatan Indera Penglihatan dan Pendengaran tahun 1993-1996 yang dilakukan pada tujuh provinsi di Indonesia, didapatkan prevalensi morbiditas telinga yang paling tinggi adalah gangguan pendengaran (16,8%), dengan kasus ototoksitas sebesar 0,3% (Gosal, 2015). Penelitian yang dilakukan di RSUP Dr. M. Djamil Padang pada tahun 2009, didapatkan bahwa 58% pasien karsinoma kepala dan leher yang mendapatkan kemoterapi cisplatin akan mengalami kenaikan nilai ambang dengar pada frekuensi 8000 Hz (Rahman, 2010).

Efek ototoksitas cisplatin paling besar terjadi pada anak-anak, karena berpotensi keterlambatan dalam pendidikan dan perkembangan psikososial.

Anak-anak yang mendapatkan kemoterapi cisplatin, 61% akan mengalami gangguan pendengaran (Skarzynska, 2020). Gangguan pendengaran ini bersifat permanen, dan sampai saat ini belum ada terapi yang disetujui untuk mengurangi atau mencegah ototoksisitas cisplatin, meskipun beberapa studi praklinis menjanjikan (Yu, 2020). Meskipun gangguan pendengaran tersebut bukanlah kondisi yang mengancam jiwa, namun hal ini penting karena mengganggu kualitas hidup dan menyebabkan masalah komunikasi sehari-hari, serta dapat menyebabkan gangguan psikologis pada anak-anak (Akdemir *et al.*, 2018).

Dampak dari ototoksisitas cisplatin adalah gangguan pendengaran sensorineural pada kedua telinga, ireversibel, dimulai pada frekuensi 6000-8000 Hz yang pada akhirnya akan mempengaruhi frekuensi yang lebih rendah jika pengobatan dilanjutkan, disertai dengan tinitus (Savitri, 2021). Pemeriksaan *Distortion Product Otoacoustic Emission* (DPOAE) dianggap sebagai pemeriksaan skrining pendengaran yang berguna untuk menilai terjadinya ototoksisitas/ gangguan fungsi *outer hair cell* (OHC) koklea, karena sel-sel rambut luar koklea bertanggung jawab untuk penerimaan pendengaran di telinga bagian dalam. Pemeriksaan DPOAE memiliki sensitivitas sebesar 100% dan spesifisitas 82-87% (Lubis & Haryuna, 2022).

Penelitian yang dilakukan oleh Sagit (2013), melaporkan pemeriksaan DPOAE digunakan untuk menilai ototoksisitas cisplatin pada tikus yang diberi injeksi intraperitoneal cisplatin dengan dosis 15 mg/kgBB, didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan respon OHC koklea dari pemeriksaan DPOAE. Akdemir *et al.* (2018), mendapatkan bahwa pemberian injeksi intraperitoneal cisplatin pada tikus percobaan dengan dosis tunggal 10 mg/kgBB akan

menyebabkan terjadinya ototoksisitas berupa kerusakan/ penurunan jumlah OHC dari gambaran histologi koklea, selain itu juga meningkatkan kadar *malondialdehid* (MDA), menurunkan kadar *superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione peroxidase* (GPx) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pemeriksaan histopatologi akan memperkuat hasil yang diambil pada pemeriksaan DPOAE, karena dengan pemeriksaan histopatologi dapat menilai derajat kerusakan integritas jaringan organ korti koklea tikus putih. Histopatologi merupakan standar baku emas untuk menegakkan diagnosis terjadinya ototoksisitas (Roslan & Herwanto, 2020). Hewan coba model ototoksisitas cisplatin dapat dibuat pada tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dengan cara pemberian injeksi cisplatin intraperitoneal dosis tunggal dengan dosis 12-16 mg/kgBB, didapatkan kerusakan OHC dan penurunan nilai DPOAE (Lin, 2021).

Cisplatin akan merusak sel-sel rambut luar koklea mulai hari ketiga dan mencapai tingkat maksimum pada hari ke-10, terjadi terus menerus dari basis hingga apeks, sehingga gangguan pendengaran sensorineural akan terjadi mulai dari frekuensi tinggi (Esen *et al.*, 2018; Kökten *et al.*, 2020). Ketika semua OHC rusak, maka akan terjadi kerusakan pada sel-sel rambut dalam dan sel-sel pendukung koklea. Ototoksisitas cisplatin terjadi melalui siklus yang disebabkan oleh peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS), stress oksidatif, peradangan dan apoptosis di telinga bagian dalam (Hazlitt, 2018; Farooq *et al.*, 2022).

Setelah cisplatin diberikan secara sistemik, cisplatin akan melewati *blood-labyrinth barrier* (BLB) dan masuk ke endolimfe melalui stria vaskularis dan membran Reissner (Zhang, 2020; Wu, 2021). Cisplatin akan masuk ke dalam

OHC dengan bantuan *organic cation transporter-2* (OCT-2) sebagai media transpornya. Di dalam OHC, cisplatin akan mempengaruhi jalur intrinsik dan jalur ekstrinsik (Gentilin, 2019). Pada jalur intrinsik, cisplatin akan menyebabkan terjadinya stres retikulum endoplasma, kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan peningkatan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidatif (Fujimoto & Yamasoba, 2019). Peningkatan NADPH oksidatif akan menyebabkan terbentuknya radikal bebas, sehingga akan meningkatkan ROS dan stress oksidatif di mitokondria (Kishimoto-Urata, 2022). Peningkatan ROS ini juga menyebabkan terjadinya kerusakan DNA (Benkafadar *et al.*, 2019). Kerusakan DNA akan menyebabkan peningkatan *protein 53* (p53), yang kemudian akan menghambat *b-cell lymphoma-2* (Bcl-2) dan meningkatkan ekspresi Bax (Tang *et al.*, 2021). Peningkatan stress oksidatif dan Bax akan menyebabkan terjadinya pelepasan sitokrom-c yang akan menghasilkan caspase-9 dan caspase-3 (Nan, 2019). Cisplatin akan mengurangi kadar enzim antioksidan, termasuk SOD, *catalase* (CAT), GPx, dan *glutathione S transferase* (GSH-ST) (Ighodaro & Akinloye, 2018).

Pada jalur ekstrinsik, cisplatin akan melakukan pengikatan reseptor kematian sel dan inflamasi pada permukaan sel (Hendriyanto, 2020). Cisplatin akan menginduksi aktivasi *nuclear factor kappa-B* (NF- κ B) yang akan meningkatkan sitokin pro-inflamasi, yang menyebabkan aktivasi dari caspase-3, serta meningkatkan ekspresi dari *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) (Ramkumar, 2021). NF- κ B meningkatkan pelepasan sitokin proinflamasi, antara lain *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α), *interleukin-1* (IL-1) dan *interleukin-6* (IL-6) di koklea (Moon, 2019). TNF- α akan mengaktifkan caspase-3 dan

caspase-8, sehingga terjadinya peningkatan apoptosis, dan berdampak terjadinya ototoksisitas (Romano *et al.*, 2020).

Ototoksisitas cisplatin disebabkan oleh proses stress oksidatif dan inflamasi. Senyawa SOD, MDA, dan NF- κ B merupakan biomolekul yang berperan pada kejadian ototoksisitas cisplatin. Pemeriksaan derajat kerusakan organ korti koklea dapat dijadikan tanda terjadinya suatu proses apoptosis akibat stress oksidatif dan inflamasi tersebut. Enzim SOD merupakan enzim antioksidan endogen terbanyak di dalam tubuh, berpengaruh sangat kuat untuk pertahanan tubuh pertama dalam mengatasi stres oksidatif (Ighodaro & Akinloye, 2018). MDA merupakan molekul reaktif yang akan bereaksi dengan protein tubuh, dan terbentuk dari peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Aktivitas SOD dan MDA digunakan sebagai acuan untuk memperkirakan tingkat stress oksidatif di dalam tubuh (Akdemir *et al.*, 2018). Senyawa NF- κ B merupakan suatu faktor transkripsi yang memproduksi sitokin proinflamasi, yang akan menyebabkan terjadinya proses inflamasi di OHC koklea (Gentilin, 2019).

Upaya pertahanan tubuh untuk menghambat peningkatan stress oksidatif tersebut adalah dengan memproduksi antioksidan endogen (SOD, CAT, GPx, dan GSH-ST). Namun karena terdapat stress oksidatif yang sangat tinggi akibat cisplatin, aktivitas antioksidan endogen berkurang (Ighodaro & Akinloye, 2018). Keadaan ini menyebabkan obat-obatan yang efektif mencegah atau membatasi ototoksisitas kemoterapi cisplatin menjadi hal yang penting. Terdapat tiga golongan obat yang dapat digunakan untuk mencegah efek ototoksisitas dari cisplatin, yaitu golongan antioksidan, antiapoptotik dan neurotropik (Sheth, 2017). Beberapa penelitian praklinis telah mendapatkan obat-obat antioksidan yang dapat

mencegah ototoksisitas cisplatin antara lain *Sodium Thiosulphate*, *D-methionine*, Vitamin E, Ginkgo Biloba, *N-acetylcysteine*, Dexamethasone dan Lycopene, namun obat-obat tersebut masih memerlukan uji klinis lebih lanjut untuk persetujuan sebagai terapi ototoksisitas cisplatin (Esen *et al.*, 2018; Mukherjea *et al.*, 2020).

Senyawa *thymoquinone* merupakan senyawa aktif utama/ terbanyak yang terdapat pada jintan hitam (*Nigella sativa*), berfungsi sebagai antioksidan yang berguna untuk mencegah efek ototoksisitas cisplatin (Ardiana, 2020). Senyawa *thymoquinone* masih belum banyak diketahui oleh orang di Indonesia. Pada beberapa tahun terakhir, *thymoquinone* telah menjadi titik fokus dalam studi farmakologis karena sifat antioksidannya yang kuat (Goyal *et al.*, 2017). Penelitian dari Barutu (2018) menunjukkan bahwa kekuatan aktivitas antioksidan biji jintan hitam termasuk golongan antioksidan kuat, dengan *inhibition concentration, 50% (IC₅₀)* sebesar 80,43 µg/ml. Selain itu *thymoquinone* juga berfungsi sebagai antiinflamasi, imunomodulator, anti kanker, antimikroba, hepatoprotektif, gastroprotektif, neuroprotektif, kardioprotektif, nefroprotektif dan otoprotektif (Harkaeh, 2022).

Thymoquinone memiliki aktivitas *scavenger* yang kuat untuk radikal bebas, terutama untuk anion superoksida dan radikal hidroksil (Butt *et al.*, 2021). Pemberian *thymoquinone* peroral pada tikus wistar jantan dewasa mampu mengurangi produksi ROS, MDA, NF-κB, dan Bcl-2; serta dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (SOD, CAT, GPx, GSH-ST) terhadap toksisitas usus, hepatotoksisitas dan kardiotoksisitas yang diinduksi cisplatin. Dosis toleransi maksimum (MTD) dari *thymoquinone* melalui rute oral untuk tikus adalah

250 mg/kgBB (Farooq *et al.*, 2022). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa dosis *thymoquinone* peroral yang tidak menyebabkan toksisitas dan kematian pada tikus berkisar antara 10-100 mg/kgBB (Raish *et al.*, 2017; Mekhemar, 2020). Penelitian Sagit (2013) melaporkan bahwa pemberian *thymoquinone* 40 mg/kgBB/hari secara intraperitoneal selama lima hari, dapat mencegah ototoksitas cisplatin dengan mempertahankan respons DPOAE dan ambang *Auditory Brainstem Response* (ABR). Mekanisme molekuler dari proteksi *thymoquinone* terhadap ototoksitas cisplatin masih belum dipahami dengan baik. Penelitian yang mengkaji tentang mekanisme biologi molekuler (SOD, MDA, dan NF- κ B) otoproteksi *thymoquinone* pada ototoksitas cisplatin sampai saat ini belum ada. Diperlukan penelitian guna mencari antioksidan yang kuat untuk mencegah efek ototoksitas cisplatin.

Berdasarkan hal tersebut, diperlukan penelitian tentang pengaruh pemberian *thymoquinone* terhadap ototoksitas cisplatin dengan menggunakan tikus putih *Rattus norvegicus* sebagai sampel, mengingat pengambilan jaringan fibroblas koklea tidak dapat dilakukan pada manusia. Tikus putih *Rattus norvegicus* juga memiliki kemiripan dalam struktur anatomi telinga bagian dalam dengan manusia (Holt, 2019).

Oleh karena itu peneliti tertarik untuk memperbaiki kerusakan telinga akibat cisplatin dengan pemberian *thymoquinone* melalui pemeriksaan DPOAE, SOD, MDA, dan NF- κ B, serta menilai derajat kerusakan koklea (apoptosis), sehingga akan didapatkan sebagai terapi dalam mencegah atau mengurangi efek ototoksitas cisplatin.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang diatas, dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini yaitu:

1. Bagaimana pengaruh *thymoquinone* terhadap ekspresi SOD di jaringan koklea akibat ototoksisitas cisplatin?
2. Bagaimana pengaruh *thymoquinone* terhadap kadar SOD serum akibat ototoksisitas cisplatin?
3. Bagaimana pengaruh *thymoquinone* terhadap kadar MDA serum akibat ototoksisitas cisplatin?
4. Bagaimana pengaruh *thymoquinone* terhadap kadar NF- κ B serum akibat ototoksisitas cisplatin?
5. Bagaimana efek *thymoquinone* pada kerusakan koklea (apoptosis) akibat ototoksisitas cisplatin?
6. Bagaimana pengaruh *thymoquinone* terhadap gangguan pendengaran akibat cisplatin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengkaji pengaruh pemberian *thymoquinone* pada ototoksisitas cisplatin.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh *thymoquinone* terhadap ekspresi SOD di jaringan koklea akibat ototoksisitas cisplatin.
2. Menganalisis pengaruh *thymoquinone* terhadap kadar SOD serum akibat ototoksisitas cisplatin.
3. Menganalisis pengaruh *thymoquinone* terhadap kadar MDA serum akibat ototoksisitas cisplatin.

4. Menganalisis pengaruh *thymoquinone* terhadap kadar NF- κ B serum akibat ototoksisitas cisplatin.
5. Menganalisis efek *thymoquinone* pada kerusakan koklea (apoptosis) akibat ototoksisitas cisplatin.
6. Menganalisis pengaruh *thymoquinone* terhadap gangguan pendengaran akibat cisplatin.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Perkembangan Ilmu Pengetahuan

Dari hasil penemuan ini dapat memberikan bukti ilmiah tentang mekanisme *thymoquinone* dalam menghambat proses ototoksisitas akibat pemberian cisplatin.

1.4.2 Terapan

Dapat digunakan sebagai dasar pengembangan dan pemanfaatan antioksidan eksogen *thymoquinone* untuk terapi dalam mencegah atau mengurangi efek ototoksisitas cisplatin di Bagian Ilmu Kesehatan THT-KL.

1.4.3 Masyarakat

Pemberian *thymoquinone* dapat mencegah gangguan pendengaran dan meningkatkan kualitas hidup pasien-pasien yang mendapatkan terapi cisplatin.

