

**UJI EFEKTIFITAS SENYAWA SINTETIK DERIVAT
ZERUMBON (*13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-
Trien-1-on*) TERHADAP TUMOR PANKREAS DENGAN
MODEL XENOGRAFT**

**NURHADRI AZMI
N111 09 269**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**UJI EFEKTIFITAS SENYAWA SINTETIK DERIVAT ZERUMBON
(13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on) TERHADAP
TUMOR PANKREAS DENGAN MODEL XENOGRAFT**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**



**NURHADRI AZMI
N111 09 269**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

PERSETUJUAN

**UJI EFEKTIFITAS SENYAWA SINTETIK DERIVAT ZERUMBON
(13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on) TERHADAP
TUMOR PANKREAS DENGAN MODEL XENOGRAFT**

NURHADRI AZMI

N 111 09 269

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

Pembimbing Pertama,

Pembimbing Kedua,

Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., PhD., Apt.
NIP. 19751117 200012 2 001

Drs.Syahrudin Kasim, M.Si., Apt.
NIP. 19630801 199003 1 001

Pada tanggal, 28 Mei 2013

PENGESAHAN

**UJI EFEKTIFITAS SENYAWA SINTETIK DERIVAT ZERUMBON
(13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on) TERHADAP
TUMOR PANKREAS DENGAN MODEL XENOGRAFT**

Oleh :
Nurhadri Azmi
N 111 09 269

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal 28 Mei 2013**

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua

Usmar, S.Si., M.Si., Apt. :

2. Sekretaris

Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. :

3. Ex Officio

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA, Apt. :

4. Ex Officio

Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. :

5. Ex Officio

Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt. :

6. Anggota

Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. :

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin**

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, Mei 2013

Penyusun,

Nurhadri Azmi

UCAPAN TERIMA KASIH



Subhanallahu Wal Hamdulillahu Wa Laa Ilaaha Illallahu

Wallahu Akbar. Tiada kata terindah yang patut keluar dari lisan penulis, selain kata “syukur” ke hadirat Allah Subhanahu Wa Ta’ala yang telah melimpahkan rahmat dan inayah-Nya kepada penulis sehingga skripsi ini bisa terselesaikan. Shalawat serta salam selalu tercurahkan kepada junjungan kita, Nabiullah Muhammad Shallallahu ‘alaihi Wasallam. Terima kasihku terucap dari hati yang paling dalam, serta rasa sayang penulis haturkan kepada ayahanda Muh. Anshar dan ibunda Nurhawati atas segala pengorbanan yang telah dilakukan, baik itu pengorbanan moril maupun materil, demi untuk melihat penulis bisa merengkuh keberhasilan. Penulis sadar bahwa tidak ada yang dapat penulis lakukan untuk membalas pengorbanan tersebut, tetapi penulis hanya dapat memanjatkan do’a kepada Allah SWT, sesungguhnya Allah Maha Tahu dan Maha Bijaksana. *“Sayangilah kedua orang tua hamba, sebagaimana mereka telah menyayangi hamba pada waktu kecil. Ampunilah pula dosa mereka, ya Allah.*

1. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Ibu Elly Wahyudin, DEA, Apt selaku pembimbing utama penulis, Yusnita Rifai S.Si, M.Pharm, Ph.D, Apt selaku pembimbing pertama penulis serta bapak Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt selaku pembimbing kedua penulis, yang telah bisa

mengayomi sebagai orang tua kedua penulis, bisa sebagai sahabat yang bersedia menerima segala bentuk curhatannya penulis, Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan itu, Amin.

2. Saudara-saudaraku; Nurhadiansyah, Agung Firmansyah serta seluruh keluargaku yang telah memberiku semangat untuk menggapai asa dan cita demi keberhasilanku di dunia, penulis haturkan terima kasih.
3. Kepada ibu Dekan Fakultas Farmasi, Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA, Apt, dan Bapak Drs. A. Ilham Makhmud, Dip.Sc., MM., Apt selaku penasehat akademik penulis; dan bapak/ibu dosen Fakultas Farmasi UNHAS; terima kasih atas ilmu, nasehat, dan saran yang telah diberikan selama penulis menjalani perkuliahan ini.
4. Kepada teman seperjuangan penelitian penulis, Desi Rosanti, Adelin Junita Padangaran; terimakasih untuk kesabaran dan rasa memahami yang lebih selama ini. Kepada Kak Ismail, S.si., Apt, kak Nur Amir, S.Si., Apt, Andi Arjuna, S.Si., Apt, dan Hermanto utomo, S.Si. Terimakasih atas segala saran dan masukannya kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
5. Kepada teman-teman DNA house dan PT. Suka Maju ; Andi Arjuna, Amal Reska Putra, Andi Talbani, Muh. Reski Husein, Nurul Haq, Hendra, Indra Latif, Satria Putra penarosa, Habiburrahim B, Kuandi tandiara tan, Harold B. Tani, Purnawan P. Putra, Irwan,

Khaerul Amry, Suhermawan, Marthin F.R, terimakasih untuk semangatnya selama ini.

6. Kepada rekan-rekan Asisten Laboratorium Biofarmasi. Terima kasih atas masukan dan sarannya
7. Kepada saudari Annisyiah Wira Mahkota, terima kasih atas doa, semangat dan dukungannya.
8. Kepada saudara(i)ku angkatan 2009 dan warga Kemafar Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Terima kasih banyak atas semua persaudaraan dan persahabatan yang telah kalian tanamkan dalam setiap relung hidupku, begitu juga canda dan tawa yang telah kalian tuliskan dalam setiap episode perjalanan hidup penulis.
9. Seluruh Pegawai Akademik, staf pegawai dan seluruh laboran Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis dalam dunia kampus ini.
10. Terimakasih kepada semua pihak yang tidak dapat disebut satu per satu dan telah banyak membantu penulis, baik didalam menyusun skripsi ini ataupun dalam kehidupan sehari-hari.

Penulis sangat menyadari, dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, sehingga saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan oleh penulis kedepannya.

Makassar, Mei 2013

Penulis,

Nurhadri Azmi

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji efektifitas senyawa sintetik derivat Zerumbon (*13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on*) terhadap tumor pankreas dengan model xenograft. Pengujian dimulai dengan inokulasi kultur sel tumor PANC1 manusia ke mencit melalui rute subkutan. Perlakuan diberikan dengan variasi dosis zerumbon 13-OH yaitu 1 µg/kg BB (K1), 1,5 µg/kg BB(K2), 2 µg/kg BB (K3), serta pembanding gemcitabine® sebagai kontrol positif dengan dosis 40 mg/kg BB (K+). Masing-masing dosis diberikan secara per oral. Paramater yang digunakan yaitu diameter tumor mencit, hasil histologi organ pankreas, dan bobot paru-paru mencit. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol negatif. Hasil histologi organ pankreas memperlihatkan jumlah sel nekrotik (K+) 76 sel, (K1) 84 sel, (K2) 63 sel, (K3) 46 sel, dan (K-) 115 sel, hasil ini menunjukkan senyawa dapat mengurangi jumlah sel nekrotik pada mencit. Hasil penelitian juga ditunjang oleh rasio bobot paru-paru mencit, dimana (K+) memiliki rasio ;4,2170; (K1) 5,0268; (K2) 4,1943; (K3) 4,4569; (K-) 7,8152. Data ini menunjukkan bahwa pemberian senyawa aktif menunjukkan penurunan volume edema paru-paru mencit. Dengan demikian, Zerumbon 13-OH dengan dosis 2 µg/kg BB BB memiliki pengaruh yang signifikan terhadap penurunan diameter tumor mencit, penurunan jumlah sel nekrotik, dan rasio bobot paru-paru.

ABSTRACT

The Research on effectiveness of synthetic compounds derivatives Zerumbon (*13-Hydroxy-2,9,9-Trimethylcycloundeca-2,6,10-Trien-1-on*) against pancreatic tumor xenograft models has been done. Testing begins with the inoculation of tumor cells cultured human PANC1 to mice by the subcutaneous route. The treatment was given to the variation of 13-OH zerumbon dose is 1 mg / kgBW (K1), 1.5 mg / kgBW (K2), 2 mg / kgBW (K3), and gemcitabine ® as a positive control at a dose of 40 mg / kgWB (K +).each dose was administered via routes per oral. Parameters used were tumor diameter, histology results of organ pancreas, and lung weights of mice. Statistical analysis showed a significant between the treatment group and the negative control. Pancreas organ histology results showed the number of necrotic cells (K +) 76 cells, (K1) 84 cells, (K2) 63 cells, (K3) 46 cells, and (K-) 115 cells, these results indicated the compound might reduce the number of necrotic cells in mice. The results was also supported by the weight ratio of the lungs of mice, where (K +) had a ratio; 4.2170; (K1) 5.0268; (K2) 4.1943; (K3) 4.4569; (K-) 7, 8152. These data indicated that administration of the active compounds showed decreased lung edema volume of mice. Therefore, Zerumbone 13-OH with a dose of 2 mg / kgWB had a significant effect on the decrease in tumor diameter of mice, decreased the number of necrotic cells, and lung weight ratios.

DAFTAR ISI

halaman

UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Zerumbon	5
II.2 Pankreas	6
II.2.1 Anatomi Pankreas	6
II.2.2 Fisiologi Pankreas	10
II.3 Bioassay	16
II.4 Kanker	17
II.5 Xenograft	20
II.6 Hedgehog	22
II.7 Gemcitabine®	23
II.8 Histologi	27

II.8.1	Sel darah putih	27
II.9	Uraian hewan uji	30
II.9.1	Sifat-sifat mencit	30
II.9.2	Cara pemilihan dan penyiapan mencit	30
II.9.3	Cara penanganan mencit	30
BAB III	PELAKSANAAN PENELITIAN	31
III.1	Penyiapan Alat dan Bahan	32
III.2	Metode Kerja	32
III.2.1	Penyiapan bahan penelitian	32
III.2.1.1	Penyiapan Sampel	32
III.2.1.2	Penyediaan sel tumor PANC1	33
III.2.1.3	Penyediaan media kultur PANC1	33
III.2.1.4	Pembuatan larutan uji.....	33
III.2.1.5	Penyediaan kontrol positif	33
III.3	Pemilihan dan penyiapan hewan uji	33
III.3.1	Pemilihan hewan uji	33
III.3.2	Penyiapan hewan uji	33
III.3.3	Perlakuan terhadap hewan uji	34
III.4	Pengamatan	34
III.4.1	Pengukuran diameter tumor pankreas	34
III.4.2	Penimbangan bobot paru-paru mencit	35
III.4.3	Analisis Histologi	35
III.4.4	Pengumpulan dan analisis data	35

III.5	Pembahasan	35
III.7	Kesimpulan	35
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		36
IV.1	Hasil Penelitian	36
IV.2	Pembahasan	41
BAB V PENUTUP		45
V.1	Kesimpulan	45
V.2	Saran	46
DAFTAR PUSTAKA		46

DAFTAR TABEL

TABEL	halaman
1. Ukuran dan jumlah sel darah manusia	29
2. Data jumlah neutrofil sel kanker pankreas	36
4. Data pengukuran diameter tumor pankreas	37
7. Data perhitungan rasio bobot basah terhadap bobot kering paru-paru	39

DAFTAR GAMBAR

GAMBAR	halaman
1. Struktur zerumbon ($C_{15}H_{22}O$)	5
2. Struktur zerumbon 13-OH	6
3. Anatomi pankreas	7
4. <i>Duktus pankreaticus</i> pada pankreas	9
5. Histogram jumlah neutrofil sel kanker pankres	36
6. Histogram rata-rata pengukuran diameter tumor pankreas.....	38
7. Histogram rasio bobot basah terhadap bobot kering paru-paru.....	40
8. Foto histologi pankreas (Zerumbon 13-OH 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB)	58
9. Foto histologi pankreas (Zerumbon 13-OH 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB)	58
10. Foto histologi pankreas (Zerumbon 13-OH 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BB)	59
11. Foto histologi pankreas (Gemcitabine®)	59
12. Foto histologi pankreas (Kontrol negatif).....	60
13. Sampel Zerumbon 13-OH	61
14. Kultur sel PANC1	61
15. Mencit yang telah diinduksi sel PANC1	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
I. Skema Kerja	51
II. Perhitungan dosis	53
III. Perhitungan Statistik	56
IV. Hasil Histologi	58
V. Foto Penelitian	61

DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/singkatan	Arti
BGI	Bioessay Guided Isolation
BNF	Buffer Neutral Formalin
CT	Computed Tomography
ERCP	Endoscopic Retrograde Cholangio Pancreaticography
GLI	Glioma
Hh	Hedgehog
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
MRI	Magnetic Resonance Imaging
PANC1	Pancreatic Cancer Cells
PTCH	Patched 1
Smo	Proto Oncogene Smoothened
TOI	Target Oriented Isolation
TNF	Tumor Necrosis Factors
USG	Ultrasonografy
WBC	White Blood Cells
μM	Mikro Molar

BAB I

PENDAHULUAN

Kanker pankreas merupakan tumor yang relatif sering terjadi. Lokasi timbulnya kebanyakan pada daerah kaput pankreas yaitu 60 % kemudian kanker kaudal 30 % dan kanker seluruh pankreas yaitu 10%. Ada banyak faktor resiko yang dapat menyebabkan kanker pankreas diantaranya merokok, obesitas, pankreatitis kronik, dan mutasi gen (1,2).

Kanker pankreas merupakan penyebab kematian keempat akibat kanker (selain kanker paru, kolon dan payudara) baik pada pria maupun wanita di Amerika Serikat. Manifestasi klinik dari karsinoma kaput pankreas yang paling sering dijumpai adalah sakit perut, berat badan turun dan ikterus. Diagnosis sulit ditegakkan, sehingga tumor biasanya tidak ditemukan kecuali bila telah menyebar terlalu luas sehingga tidak dapat dilakukan reseksi lokal (3,4,5,6). Saat ini metode yang sering digunakan untuk mendiagnosa kanker pankreas diantaranya *Ultrasonografi (USG)*, *Computed Tomography (CT)*, *Scan Abdomen Magnetic Resonance Imaging (MRI)*, *Endoscopic Retrograde Cholangio Pancreaticography (ERCP)*, dan *Ultrasonografi Endoskopik (4)*.

Saat ini obat untuk terapi kanker pankreas sangat kurang dan terhambat oleh efek samping obat-obat anti kanker yang merusak organ-organ yang masih normal. Apalagi dengan kurangnya pendeteksian kanker pankreas sejak dini pada laboratorium klinik. Dengan demikian,

pengembangan obat baru untuk mencegah dan mengobati kanker pankreas merupakan misi penting kedepannya (7).

Zerumbon merupakan senyawa sesquiterpen yang diisolasi dari tanaman Lampuyang wangi (*Zingiber zerumbet L.*) yang memiliki potensi sebagai penghambat signal Hh dengan IC_{50} 7,1 μ M (8). Derivat zerumbon disintesis oleh Rifai, Y dengan melakukan penambahan gugus hidroksil pada atom C 13 zerumbon. Pengujian konsentrasi penghambatan (IC_{50}) terhadap senyawa sintetik tersebut sedang berlangsung. Diharapkan derivat Zerumbon tersebut memiliki efektivitas penghambatan yang sama atau bahkan lebih baik dari pada *parent drugnya* (zerumbon).

Jalur *Hedgehog* (Hh) sinyal sangat penting untuk pertumbuhan sel dan pemeliharaan sel induk. Kerusakan komponen inti dari jalur Hh sering menyebabkan cacat lahir bawaan sedangkan penyimpangan jalur *Hedgehog* akan menyebabkan kanker. Dalam sel-sel kanker, pengikatan ligan protein Hh ke reseptor *Patched 1* (PTCH) menginduksi PTCH pada *Proto-Oncogene Smoothened* (Smo), sehingga memungkinkan Smo untuk melepaskan faktor transkripsi GLI (glioma) (9).

Pada umumnya, isolasi bahan alam menggunakan metode *Bioessay-Guided Isolation* (BGI). Metode ini memerlukan pemantauan terhadap semua tahapan fraksinasi dengan menggunakan sistem bioassay dan membutuhkan waktu yang lama. Yusnita Rifai et al (10,11) telah melaporkan adanya metode baru yang berdasarkan prinsip *nano magnetic dynabeads* untuk mengisolasi secara cepat senyawa inhibitor

GLI dari bahan alam (10,11). GLI-GST dikultur dan diimmobilisasi pada *dynabeads* asam karboksilat untuk menyerap senyawa aktif. Tanaman “hit” dipilih jika suspensi campuran GLI-magnetik beads dan tanaman ekstrak membentuk endapan. Supernatan yang terdiri dari senyawa non-spesifik tidak digunakan sedangkan endapan diekstraksi dengan metanol kemudian dipisahkan senyawa-senyawanya menggunakan kromatografi kolom (10).

Metode *Target Oriented Isolation* (TOI) lebih unggul dibandingkan metode *Bioessay Guided Isolation* (BGI) sebab dengan metode TOI diperoleh rendamen isolat > 2 mg, senyawa murni bebas dari lemak, dan senyawa yang bekerja spesifik pada protein GLI. Dengan jumlah rendamen > 2 mg senyawa bahan alam lebih mudah disintesis dan dimodifikasi strukturnya untuk pengembangan dan penemuan obat sintetik antikanker baru (10).

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah senyawa derivat zerumbon (*13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on*) yang diperoleh dengan mensintesis zerumbon dari hasil isolasi secara TOI memiliki efek menghambat pertumbuhan tumor pankreas pada mencit dengan model xenograft.

Tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan konsentrasi derivat zerumbon (*13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on*) yang efektif menghambat tumor pankreas. Adapun manfaat dari penelitian ini

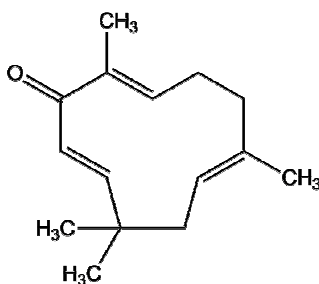
adalah menambah informasi tentang inhibitor GLI yang dapat digunakan untuk uji klinik terhadap pengobatan kanker pankreas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Zerumbon

Zerumbon memiliki rumus molekul $C_{15}H_{22}O$ dengan massa molekul relatif (Mr) 218,34 serta titik didih $321^{\circ}C$ - $322^{\circ}C$. Nama lain dari Zerumbon berdasarkan data IUPAC adalah *2,6,9,9-tetrametilsikloundeka-2,6,10-trien-1-on* (12).

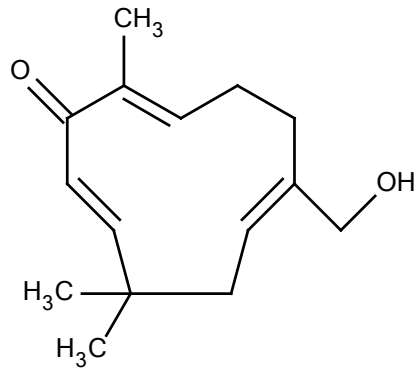


Gambar 1. Struktur Zerumbon ($C_{15}H_{22}O$) Sumber : Kitayama, T., et al. The Chemistry of Zerumbone IV Asymmetric Synthesis of Zerumbone. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic Volume 17. Hal 75-79

Senyawa ini merupakan senyawa alam yang memiliki potensial untuk penggunaan antikanker dan antitumor (13). Zerumbon memiliki kemampuan untuk menginduksi enzim detoksifikasi fase II yang terdapat dalam sel RL34, Induksi terhadap enzim ini telah diketahui dapat melawan toksisitas dan kimia karsinogen (14).

Zerumbon ini kemudian disintesis oleh Rifai, Y dengan melakukan penambahan gugus hidroksil pada atom C 13 untuk memperoleh derivatnya. Pengujian konsentrasi penghambatan (IC_{50}) terhadap senyawa sintetis tersebut sedang berlangsung. Diharapkan derivat Zerumbon tersebut

memiliki efektivitas penghambatan yang sama atau bahkan lebih baik dari pada *parent drugnya* (Zerumbon).



Gambar 2. Struktur 13-Hidroksi-2,9,9-Trimetilsikloundeka-2,6,10-Trien-1-on

II.2 Pankreas

II.2.1 Anatomi Pankreas (15,16,17)

Pankreas merupakan suatu organ berupa kelenjar dengan panjang dan tebal sekitar 12,5 cm dan tebal + 2,5 cm (pada manusia). Pankreas terbentang dari atas sampai ke lengkungan besar dari perut dan biasanya dihubungkan oleh dua saluran ke duodenum (usus 12 jari), terletak pada dinding posterior abdomen di belakang peritoneum sehingga termasuk organ retroperitonal kecuali bagian kecil kaudanya yang terletak dalam ligamentum lienorenalis. Strukturnya lunak dan berlobulus.

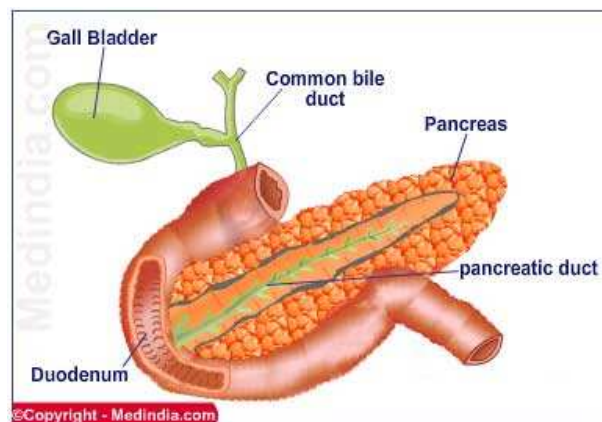
1. Bagian Pankreas

Pankreas dapat dibagi ke dalam:

- a. *Caput Pankreas*, berbentuk seperti cakram dan terletak di dalam bagian cekung duodenum. Sebagian kaput meluas di kiri di

belakang arteri dan vena mesenterica superior serta dinamakan Processus Uncinatus.

- b. *Collum Pancreatis* merupakan bagian pankreas yang mengecil dan menghubungkan kaput dan *corpus pancreatis*. *Collum pancreatis* terletak di depan pangkal vena porta hepatic dan tempat dipercabangkannya arteria mesenterica superior dari aorta.
- c. *Corpus Pancreatis* berjalan ke atas dan kiri, menyilang garis tengah. Pada potongan melintang sedikit berbentuk segitiga.
- d. *Cauda Pancreatis* berjalan ke depan menuju ligamentum lieno-renalis dan berhubungan dengan hilum lienale.



Gambar 3. Anatomi pankreas (Sumber : Guyton, A.C. 1976. *Textbook of Medical Physiology 5th Edition*. WB Saunders Company: Philadelphia. London.hal 625-627)

2. Hubungan

- a. *Ke anterior*: Dari kanan ke kiri: kolon transversum dan perlekatan mesokolon transversum, bursa omentalis, dan gaster.
- b. *Ke posterior*: Dari kanan ke kiri: ductus choledochus, vena porta hepatic dan vena lienalis, vena cava inferior, aorta, pangkal arteri

mesenterica superior, musculus major sinistra, glandula suprarenalis sinistra, ren sinister, dan hilum lienale.

3. Vaskularisasi

a. Arteri

- Arteri pancreatico duodenalis superior (cabang Arteri gastro duodenalis)
- Arteri pancreatico duodenalis inferior (cabang Arteri mesenterica cranialis)
- Arteri pancreatica magna dan Arteri pancretica caudalis dan inferior cabang Arteri lienalis

b. Vena

Berfungsi untuk mengalirkan darah ke sistem porta.

4. Aliran Limfatik

Kelenjar limfa terletak di sepanjang arteri yang menyuplai darah ke kelenjar. Pembuluh eferen mengalirkan cairan limfa ke *nodi limfa coeliaci* dan *mesenterica superiores*.

5. Inervasi

Berasal dari serabut-serabut saraf simpatis (ganglion seliaca) dan parasimpatis (vagus).

6. *Ductus Pancreaticus*

a. *Ductus Pancreaticus Mayor*

Mulai dari kauda dan berjalan di sepanjang kelenjar menuju ke kaput, menerima banyak cabang pada perjalanannya. *Ductus* ini

bermuara ke pars desendens duodenum di sekitar pertengahannya bergabung dengan *ductus choledochus* membentuk papilla duodeni mayor. Kadang-kadang muara *ductus pancreaticus* di duodenum terpisah dari *ductus choledochus*.

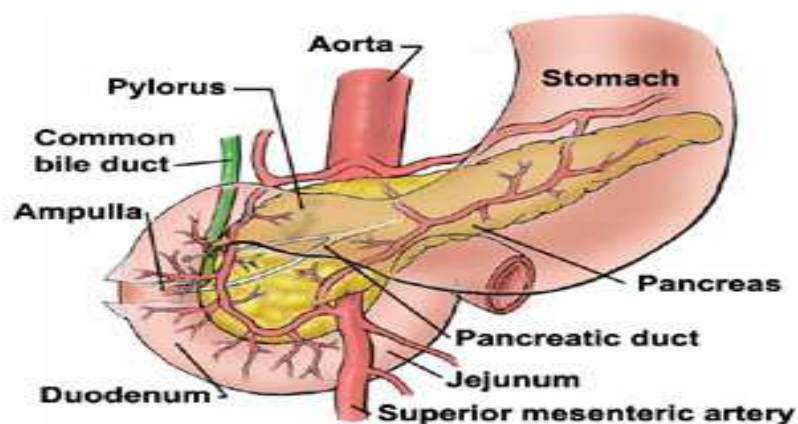
b. *Ductus Pancreaticus Minor*

Mengalirkan getah pankreas dari bagian atas *caput* pankreas dan kemudian bermuara ke duodenum.

c. *Ductus Choleochus* dan *Ductus Pancreaticus*

Ductus choledochus bersama dengan *ductus pancreaticus* bermuara ke dalam suatu rongga, yaitu *ampulla hepatopancreatica*.

Ampulla ini terdapat di dalam suatu tonjolan tunika mukosa duodenum, yaitu *papilla duodeni major*. Pada ujung papilla itu terdapat muara ampulla.



Gambar 4. *Ductus Pancreaticus* pada Pankreas (Sumber : Guyton, A.C. 1976. *Textbook of Medical Physiology 5th Edition*. WB Saunders Company: Philadelphia. London.hal 625-627)

II.2.2 Fisiologi Pankreas (16)

1. Eksokrin

Getah pankreas mengandung enzim-enzim untuk pencernaan makanan utama seperti protein, karbohidrat, dan lemak. Kelenjar eksokrin juga mengandung ion bikarbonat dalam jumlah besar, yang memegang peranan penting dalam menetralkan kimus yang bersifat asam yang dikeluarkan oleh lambung ke dalam duodenum.

Enzim-enzim proteolitik adalah tripsin, kimotripsin, karboksipeptidase, ribonuklease, deoksiribonuklease. Tiga enzim pertama memecahkan secara keseluruhan protein yang dicerna sedangkan nuklease memecahkan asam nukleat yaitu asam ribonukleat dan deoksinukleat.

Enzim pencernaan untuk karbohidrat adalah amilase pankreas, yang menghidrolisis pati, glikogen, dan sebagian besar karbohidrat lain kecuali selulosa untuk membentuk karbohidrat, sedangkan enzim-enzim untuk pencernaan lemak adalah lipase pankreas, yang menghidrolisis lemak netral menjadi gliserol, asam lemak dan kolesterol esterase yang menyebabkan hidrolisis ester-ester kolesterol.

Enzim-enzim proteolitik ketika disintesis dalam sel-sel pankreas berada dalam bentuk tidak aktif seperti tripsinogen, kimotripsinogen, dan prokarboksipeptidase, yang semuanya secara enzimatik tidak aktif. Zat-zat ini hanya menjadi aktif setelah mereka disekresi ke dalam saluran cerna. Tripsinogen diaktifkan oleh suatu enzim yang dinamakan enterokinase, yang disekresi oleh mukosa usus ketika kimus mengadakan

kontak dengan mukosa. Tripsinogen juga dapat diaktifkan oleh tripsin yang telah dibentuk. Kimotripsinogen diaktifkan oleh tripsin menjadi kimotripsin, dan prokarboksipeptidase diaktifkan dengan beberapa cara yang sama.

Penting bagi enzim-enzim proteolitik getah pankreas tidak diaktifkan sampai mereka disekresi ke dalam usus halus, karena tripsin dan enzim-enzim lain akan mencerna enzim-enzim proteolitik pankreas sendiri. Sel-sel yang sama yang mensekresi enzim-enzim proteolitik ke dalam asinus pankreas serentak juga mensekresikan zat yang dapat menghambat tripsin. Zat ini disimpan dalam sitoplasma sel-sel kelenjar sekitar granula-granula enzim, dan mencegah pengaktifan tripsin di dalam sel sekretoris dan dalam asinus dan duktus pankreas.

Enzim-enzim getah pankreas seluruhnya disekresi oleh asinus kelenjar pankreas. Namun dua unsur getah pankreas lainnya, air dan ion bikarbonat, terutama disekresi oleh sel-sel epitel duktulus-duktulus kecil yang terletak di depan asinus khusus yang berasal dari duktulus. Bila pankreas dirangsang untuk mensekresikan getah pankreas dalam jumlah besar yaitu air dan ion bikarbonat dalam jumlah besar dimana konsentrasi ion bikarbonat dapat meningkat sampai 145 mEq/liter.

Setiap hari pankreas menghasilkan 1200-1500 ml cairan pankreas. Cairan pankreas paling banyak mengandung air, beberapa garam, sodium bikarbonat, dan enzim-enzim. Sodium bikarbonat memberi sedikit pH alkali (7,1-8,2) pada cairan pankreas sehingga menghentikan gerak

pepsin dari lambung dan menciptakan lingkungan yang sesuai bagi enzim-enzim dalam usus halus.

Enzim-enzim dalam cairan pankreas termasuk enzim pencernaan karbohidrat adalah amilase. Enzim pencernaan protein adalah tripsin, kimotripsin, karboksipeptidase. Enzim pencernaan lemak yang utama dalam tubuh adalah lipase dan enzim pencernaan asam nukleat disebut ribonuklease dan deoksiribonuklease.

Seperti pepsin yang diproduksi dalam perut dengan bentuk inaktifnya atau pepsinogen, begitu pula enzim pencernaan protein dari pankreas. Hal ini mencegah enzim-enzim dari sel-sel pencernaan pankreas.

Enzim tripsin yang aktif disekresikan dalam bentuk inaktif dinamakan tripsinogen. Aktivasinya untuk tripsin diselesaikan dalam usus halus oleh suatu enzim yang disekresikan oleh mukosa usus halus ketika bubur (kimus) ini tiba dan kontak dengan mukosa. Enzim aktivasi dinamakan enterokinase. Kimotripsin diaktivasi dalam usus halus oleh tripsin dari bentuk inaktifnya, kimotripsinogen. Karboksipeptidase juga diaktivasi dalam usus halus oleh tripsin. Bentuk inaktifnya dinamakan prokarboksipeptidase.

2. Endokrin

Tersebar di antara alveoli pankreas, terdapat kelompok-kelompok kecil sel epitelium yang jelas terpisah dan nyata. Kelompok ini adalah

pulau-pulau kecil pulau Langerhans yang bersama-sama membentuk organ endokrin.

Hormon-hormon yang dihasilkan oleh kelenjar endokrin adalah :

a. Insulin

Insulin adalah suatu polipeptida yang mengandung dua rantai asam amino yang dihubungkan oleh jembatan disulfida. Terdapat perbedaan kecil dalam komposisi asam amino molekul dari satu spesies ke spesies lain. Perbedaan ini biasanya tidak cukup besar untuk dapat mempengaruhi aktivitas biologi suatu insulin pada spesies heterolog tetapi cukup besar untuk menyebabkan insulin bersifat antigenik.

Insulin dibentuk di retikulum endoplasma sel β Insulin kemudian dipindahkan ke aparatus golgi, tempat ia mengalami pengemasan dalam granula-granula berlapis membran. Granula-granula ini bergerak ke dinding sel melalui suatu proses yang melibatkan mikrotubulus dan membran granula berfusi dengan membran sel, mengeluarkan insulin ke eksterior melalui eksositosis. Insulin kemudian melintasi lamina basalis sel β serta kapiler dan endotel kapiler yang berpori mencapai aliran darah.

Waktu paruh insulin dalam sirkulasi pada manusia adalah sekitar 5 menit. Insulin berikatan dengan reseptor insulin lalu mengalami internalisasi. Insulin dirusak dalam endosom yang terbentuk melalui proses endositosis. Enzim utama yang berperan adalah insulin protease, suatu enzim di membran sel yang mengalami internalisasi bersama insulin.

Pada orang normal, pankreas mempunyai kemampuan untuk menyesuaikan jumlah insulin yang dihasilkan dengan pengambilan kembali karbohidrat, tetapi pada penderita diabetes fungsi pengaturan ini hilang sama sekali.

b. Glukagon

Molekul glukagon adalah polipepida rantai lurus yang mengandung 29 residu asam amino. Glukagon merupakan hasil dari sel-sel alfa yang mempunyai prinsip aktivitas fisiologis meningkatkan kadar glukosa darah. Glukagon melakukan hal ini dengan mempercepat konversi dari glikogen dalam hati dari nutrisi-nutrisi lain, seperti asam amino, gliserol, dan asam laktat, menjadi glukosa (glukoneogenesis). Kemudian hati mengeluarkan glukosa ke dalam darah, dan kadar gula darah meningkat.

Sekresi dari glukagon secara langsung dikontrol oleh kadar gula darah melalui sistem *feed back negative*. Ketika kadar gula darah menurun sampai di bawah normal, sensor-sensor kimia dalam sel-sel alfa dari pulau Langerhans merangsang sel-sel untuk mensekresikan glukagon. Ketika gula darah meningkat, tidak lama lagi sel-sel akan dirangsang dan produksinya diperlambat.

Jika untuk beberapa alasan perlengkapan regulasi diri gagal dan sel-sel alfa mensekresikan glukagon secara berkelanjutan, hiperglikemia (kadar gula darah yang tinggi) bisa terjadi. Olahraga dan konsumsi makanan yang mengandung protein bisa meningkatkan kadar asam

amino darah juga menyebabkan peningkatan sekresi glukagon. Sekresi glukagon dihambat oleh GHIH (somatostatin).

Glukagon kehilangan aktivitas biologiknya apabila diperfusi melewati hati atau apabila diinkubasi dengan ekstrak hati, ginjal atau otot. Glukagon juga diinaktifkan oleh inkubasi dengan darah. Indikasinya ialah bahwa glukagon dihancurkan oleh sistem enzim yang sama dengan sistem yang menghancurkan insulin dan protein-protein lain.

C. Somatostatin

Somatostatin banyak dijumpai di sel D pulau langerhans pankreas. Somatostatin berfungsi untuk menghambat sekresi insulin, glukagon, dan polipeptida pankreas dan mungkin bekerja lokal di dalam pulau-pulau pankreas. Penderita tumor pankreas somatostatin mengalami hiperglikemia dan gejala-gejala diabetes lain yang menghilang setelah tumor diangkat. Para pasien tersebut juga mengalami dispepsia akibat lambatnya pengosongan lambung dan penurunan sekresi asam lambung dan batu empedu yang tercetus oleh penurunan kontraksi kandung empedu.

Sekresi somatostatin pankreas meningkat oleh beberapa rangsangan yang juga merangsang sekresi insulin yakni glukosa dan asam amino terutama arginin dan leusin. Sekresi juga ditingkatkan oleh CCK. Somatostatin dikeluarkan dari pankreas dan saluran cerna ke dalam darah perifer.

c. Polipeptida pankreas

Polipeptida pankreas manusia merupakan suatu polipeptida linear yang dibentuk oleh sel F pulau langerhans. Hormon ini berkaitan erat dengan polipeptida YY (PYY), yang ditemukan di usus dan mungkin hormon saluran cerna dan neuropeptida Y yang ditemukan di otak dan sistem saraf otonom.

Sekresi polipeptida ini meningkat oleh makanan yang mengandung protein, puasa, olahraga, dan hipoglikemia akut. Sekresinya menurun oleh somatostatin dan glukosa intravena. Pemberian infus leusin, arginin, dan alanin tidak mempengaruhinya, sehingga efek stimulasi makanan berprotein mungkin diperantarai secara tidak langsung. Pada manusia, polipeptida pankreas memperlambat penyerapan makanan. Hormon ini mungkin memperkecil fluktuasi dalam penyerapan namun, fungsi faal sebenarnya masih belum diketahui.

II.3 Bioassay

Bioassay merupakan metode pengujian aktivitas suatu senyawa dari bahan alam maupun sintetik menggunakan makhluk hidup. *Bioassay* terdiri dari banyak metode diantaranya yaitu uji toksisitas, uji antimitotik, uji daya hambat dll. Berdasarkan hasil *bioassay* tersebut dapat dilakukan isolasi senyawa dari bahan alam atau disebut *Bioassay Guided Isolation* (BGI). Namun, ada salah satu metode penemuan obat yang baru yang diperkirakan dapat menggantikan metode *bioassay* ini, yaitu *Target*

Oriented Approach. *Target Oriented Approach* adalah metode pemisahan senyawa berdasarkan target (protein) yang diinginkan (18).

Keuntungan dari metode *Target Oriented Approach* adalah pengaplikasian yang lebih mudah, menghasilkan senyawa-senyawa yang spesifik, lebih murni dan bebas dari pengotor, tidak banyak menghabiskan pelarut dan menghasilkan rendamen yang lebih banyak, yaitu > 2 mg. Namun, metode ini belum terlalu dipakai secara umum karena masih dalam tahap penelitian secara *in vivo* dan *in vitro*.

II.4 Kanker

Kanker merupakan penyakit degeneratif yang ditandai dengan keadaan sel yang membelah secara terus menerus (proliferasi) dan tidak terkontrol(19). Pertumbuhan ini akan mendesak dan merusak pertumbuhan sel-sel normal. Sel normal tumbuh dengan suatu tujuan yang jelas yaitu membentuk jaringan tubuh dan mengganti jaringan yang rusak. Sedangkan pertumbuhan sel-sel kanker akan menyebabkan jaringan menjadi besar yang disebut tumor. Jika tidak diobati sel-sel kanker yang tumbuh dengan cepat ini akan menyusup dan menyebar ke jaringan sekitarnya melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening (20).

Insiden kanker pankreas di dunia cenderung meningkat. Pada usia 30-40 tahun, insiden kanker pankreas relatif rendah, setelah 50 tahun meningkat pesat, terutama pada 65-80 tahun sering ditemukan. Mortalitas kanker pankreas memiliki variasi etnis yang menonjol. Mortalitas di

kalangan kulit hitam Amerika Serikat lebih tinggi dibanding etnis lainnya (21).

Kanker pankreas terjadi ketika sel-sel di pankreas mulai tumbuh dan berkembang tanpa terkendali. kemudian sel kanker memiliki kemampuan untuk menyebar ke kelenjar getah bening dan organ di dekatnya (seperti hati dan paru-paru). Ketika kanker menyebar, hal itu disebut metastasis. Sekitar 70 % kanker pankreas terjadi di daerah kaput pankreas dan sebagian besar dimulai pada saluran yang membawa enzim. Sebagian besar kanker pankreas berasal dari duktus dan disebut sebagai adenokarsinoma pankreas (22).

Kanker adalah sel yang telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normalnya sehingga mengalami pertumbuhan yang tidak teratur. Kanker bisa terjadi dari berbagai jaringan dalam berbagai organ. Sejalan dengan pertumbuhan dan perkembangbiakannya, sel-sel kanker membentuk suatu massa dari jaringan ganas yang menyusup ke jaringan di dekatnya dan bisa menyebar (metastasis) ke seluruh tubuh. Sel-sel kanker dibentuk dari sel-sel normal dalam proses rumit yang disebut transformasi, yang terdiri dari tahap inisiasi dan promosi (23).

Pada tahap inisiasi terjadi suatu perubahan dalam bentuk genetik sel yang membuat sel menjadi ganas. Perubahan dalam bahan genetik sel ini disebut karsinogen, yang bisa berupa bahan kimia, virus, radiasi atau sinar matahari. Tetapi tidak semua sel memiliki kepekaan yang sama terhadap suatu karsinogen. Kelainan genetik dalam sel atau bahan

lainnya disebut promotor, menyebabkan sel lebih rentan terhadap suatu karsinogen, bahan gangguan fisik menahun pun bisa membuat sel lebih peka untuk mengalami suatu keganasan (24,25,26).

Pada tahap promosi, suatu sel yang telah mengalami inisiasi akan berubah menjadi ganas. Sel yang belum melewati tahap inisiasi ini akan tidak terpengaruh oleh promosi. Karena itu diperlukan beberapa faktor untuk terjadinya keganasan (gabungan sel yang peka dan suatu karsinogen) (24,25,26).

Hanya sebagian kecil, kira-kira 35.000 gen di dalam tubuh manusia yang dapat terkait dengan kanker. Pergantian dalam gen yang sejenis sering kali menyebabkan kanker yang berbeda-beda. Malfungsi gen dapat diklasifikasikan dalam tiga grup, yaitu : (24,25,26).

- Grup pertama disebut "*proto-oncogene*", yang memproduksi protein yang secara normal memprtinggi kerja sel atau menghambat kematian sel normal. Bentuk dari mutasi gen disebut *oncogene*.
- Grup kedua disebut "*tumor suppresor*", yang membuat protein secara normal menurunkan aktivitas sel dan menyebabkan kematian sel.
- Grup ketiga mengandung gen yang dapat memperbaiki kerusakan DNA. Salah satunya membantu mengurangi mutasi yang dapat menyebabkan kanker.

Proto-oncogene dan *tumor supresor* bekerja keras tanpa berhenti seperti mesin pada mobil. Kecepatan normal dari sebuah mobil dapat

mengontrol keadaan dari mesinnya. Sama halnya pengontrolan pertumbuhan sel diatur oleh regulasi *proto-oncogene*, faktor pertumbuhan, dan gen tumor suppresor yang semuanya dapat menekan pertumbuhan sel. Mutasi tersebut memproduksi faktor pertumbuhan *oncogene* yang dapat mempengaruhi penurunan tumor suppresor sehingga dapat terjadi pertumbuhan sel normal. Dalam kasus ini, terdapat pertumbuhan sel yang tidak terkontrol (24,25,26).

II.5 Xenograft

Xenograft merupakan suatu metode transplantasi dimana Jaringan atau organ dari individu satu spesies ditransplantasikan ke atau dicangkokkan ke organisme atau spesies lain. Studi mengenai model xenograft mulai dikembangkan pada tahun 1971 dengan pengamatan bahwa tikus dapat digunakan untuk mengembangkan tumor manusia. Kebanyakan penelitian praklinis yang telah dilakukan dengan menggunakan model tumor xenograft telah menggunakan implantasi sel tumor secara subkutan. Beberapa studi melaporkan bahwa model xenograft subkutan dapat memprediksi aktivitas klinis agen sitotoksik (27,28,29,30).

Model tumor subkutan menguntungkan karena mudah dalam pembentukan tumor, pengukuran, dan reproduktifitas. Namun, model xenograft subkutan kurang berguna untuk mempelajari agen yang memodulasi mikro tumor. Alasan ini telah digunakan untuk menjelaskan mengapa banyak senyawa terapeutik yang telah menunjukkan aktivitas

pada model xenograft subkutan namun mengungkapkan hasil yang mengecewakan saat diuji secara klinis. Perbedaan antara aktivitas obat dalam uji praklinis dan aktivitas dalam uji klinis mungkin berkaitan dengan pengobatan lanjutan dan atau proses metastasis penyakit tersebut pada saat uji klinik (31,32,33).

Salah satu laporan pertama pada model xenograft orthotopik diterbitkan oleh Tan et al dengan mengembangkan transplantasi orthotopik adenokarsinoma kolon *murine* ke dalam usus tikus yang menyebabkan peningkatan proses metastase. Penelitian ini mengemukakan bahwa model xenograft orthotopik dapat mewakili model yang lebih relevan secara klinis yang berkaitan dengan proses metastase tumor. Salah satu keuntungan dari model orthotopik adalah bahwa implantasi orthotopik sel tumor dapat menghasilkan proses metastase tumor yang lebih baik sedangkan sel sama yang diinduksikan secara subkutan jarang bermetastase. Keuntungan lain dari sistem orthotopik adalah bahwa upaya untuk menargetkan proses yang terlibat dalam invasi lokal (misalnya, penghambatan protease atau mengganggu angiogenesis) dapat dilakukan secara klinis sesuai dengan penyebabnya. Beberapa peneliti telah menggambarkan perbedaan antara aktivitas obat praklinis di subkutan dan model orthotopik dan melaporkan bahwa model orthotopik lebih tepat untuk memprediksi respons klinis (31,33,34,35,36).

II.6 Hedgehog

Signal dalam proliferasi kanker *hedgehog* (Hh) mengatur berbagai kejadian dalam perkembangan embrio dan pemeliharaan jaringan otot dewasa. Jika Hh rusak maka akan terjadi cacat lahir bawaan. Dan jika terjadi penyimpangan Hh mengakibatkan penyakit kanker (37,39).

Signal mula-mula mengikat ligan protein Hh pada membran reseptor *PTCH*. Ikatan ini akan menekan aktivitas *Proto Oncogene Smoothened (SMO)* dan memicu pelepasan Gen GLI. Kelebihan GLI akan menyebabkan karsinoma, medula blasoma, kanker pankreas, dan kanker prostat. Sehingga GLI target protein digunakan sebagai obat penemuan anti kanker (37,38).

Perkembangan penemuan senyawa yang dapat menghambat signal Hh sebagai anti kanker dimulai sejak ditemukan Hh antagonis dari bahan alam yakni *Cyclopamin*, pada beberapa jenis kanker seperti karsinoma dan medula blasoma. Signal Hh disebabkan oleh mutasi *PTCH* atau *SMO*, mutasi akan mengaktifkan GLI lalu GLI berpartisipasi pada langkah terakhir aktivasi kanker yang berkaitan dengan penyimpangan signal Hh (37,38).

GLI yang merupakan faktor transkripsi menyerupai zink yang berperan mengatur beberapa gelombang termasuk sel pembeda yang berhubungan dengan signal Hh. Ada tiga gen homolog GLI dalam vertebrata yaitu GLI1, GLI2, dan GLI3. Aktivasi gelombang GLI1, akan menyebabkan pembentukan tumor pada wilayah promotor (5'-

GACCACCCA-3') target gen. Sementara GLI2 dan GLI3 bertindak sebagai repressor (37,38).

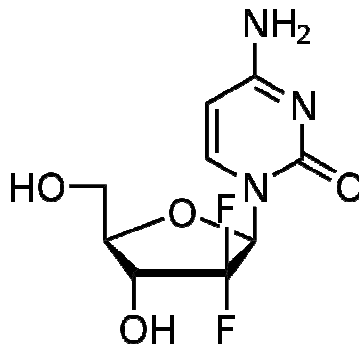
Dalam laporan terbaru, tiga situs telah mengutamakan target untuk mengidentifikasi Hh-sinyal inhibitor: Smo protein (*cyclopamine*, *Sants* 3AB, dan CUR61414), protein GLI (GANTs) dan Hh ligan (robotnikinin). Beberapa studi telah menunjukkan bahwa GLI adalah salah satu faktor transkripsi yang terkait erat dengan pembentukan tumor dengan hubungan langsung dengan situs pengikatan tertentu (5'-GACCACCCA-3') di wilayah promotor dari target gen (39).

Regulasi mengenai GLI1 dalam mediasi onkogenik sinyal Hh kurang dikenal. Beberapa melaporkan bahwa mutasi diaktifkan dari Smo yang menginduksi translokasi nuklir dari faktor transkripsi GLI. Penggunaan inhibitor Smo menunjukkan potensial yang terbatas. Inhibitor hanya mengobati tumor yang terjadi di hulu atau di tingkat Smo, namun kanker dengan komponen hilir lainnya tidak responsif terhadap Smo inhibitor. Oleh karena itu, mencari senyawa penghambat kanker yang menargetkan GLI1 secara *Smo-independen* akan menjadi sangat penting (40).

II.7 Gemcitabine®

Gemcitabine® adalah obat yang diberikan sebagai pengobatan untuk beberapa tipe kanker seperti kanker paru-paru, kanker pankreas, dan kanker payudara. Gemcitabine® dapat menimbulkan luka lebam atau perdarahan, anemia, mual dan muntah, kehilangan nafsu makan,

perubahan fungsi ginjal, ruam atau gatal pada wajah, influenza, penyimpanan cairan yang menyebabkan pembengkakan pergelangan kaki, serta kelelahan (41).



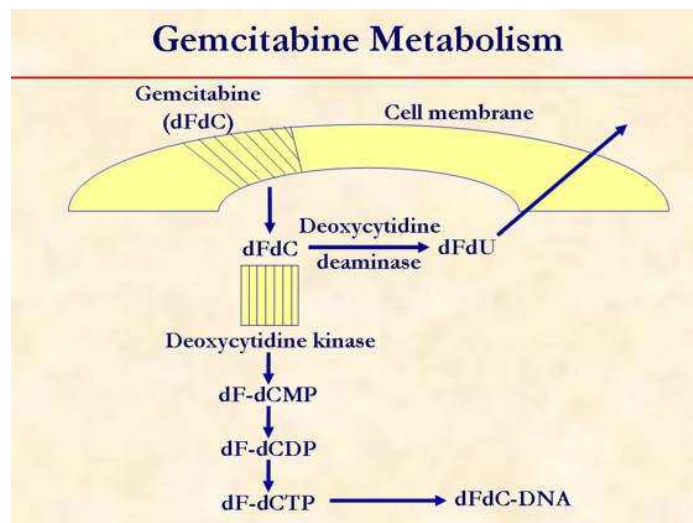
Gambar 5. Struktur Gemcitabine Sumber: Malgorzata,S.,Milena,S.,Magdalena ,J., Alina,P.,Danuta,P.Biological and physicochemical characterization of siRNAs modified with 2',2'-difluoro-2'-deoxycytidine (gemcitabine). 2010.Chapter 34. Hal : 918-924 (42).

Gemcitabine® merupakan *prodrug*, sehingga harus diubah menjadi metabolit yang aktif dengan fosforilasi. Gemcitabine® masuk ke dalam sel secara difusi terfasilitasi. Gemcitabine® memperlihatkan fase sel yang spesifik, kematian sel terjadi pada fase S dan juga mengemblok perkembangan sel selama fase G1/S (41).

Gemcitabine® adalah sebuah antineoplastik antimetabolit. Antimetabolit sebagai analog basa yaitu seperti basa purin atau pirimidin yang akan memblok di DNA sehingga akan mencegah substans memacu dengan DNA selama fase S (sintesis DNA). Sintesis DNA lebih lanjut dihambat karena gemcitabine® memblok penyatuan *nucleotide thymidine* pada rantai DNA. Gemcitabine® dapat menghambat kerja enzim-enzim

yang berperan dalam proses perpanjangan replikasi yaitu topoisomerase I (membuka helix DNA agar dapat terjadi proses pengkopian) (41).

Fosforilasi diperantarai oleh *deoxycytidine kinase* atau dCK menghasilkan Gemcitabine monophosphat (dF-dCMP). Gemcitabine monophosphate dapat menghambat dCMPdeaminase. Nucleotide kinase mengubah Gemcitabine monophosphate menjadi Gemcitabine diphosphate (dF-dCDP) dan Gemcitabine triphosphate (dF-dCTP), yang merupakan metabolit aktif (41).



Gambar 6. Metabolisme Gemcitabine. Sumber : Adityo,S. Kajian farmakologi Molekuler : Gemcitabine sebagai induktor apoptosis pada sel kanker Pankreas. 2008. Hal 9-12

Gemcitabine diphosphate menghambat ribonucleotide reduktase (RRM1, RRM2 dan RRM2B). Ribonucleotide reduktase bertanggung jawab mengkatalisis sintesis deoxynucleoside triphosphate dari cytosine nucleotide yang dibutuhkan untuk sintesis DNA. Penghambatan enzim ini menyebabkan penurunan konsentrasi deoxynucleotide termasuk deoxycytidine triphosphate (dCTP), selanjutnya dF-dCTP akan

berkompetisi dengan dCTP. Penyatuan Gemcitabine triphosphate ke dalam bagian akhir DNA ini akan menyebabkan terjadinya gangguan pada pemanjangan / penguluran rantai DNA, sehingga menghambat replikasi dan menginduksi apoptosis (41).

Gemcitabine® menginduksi apoptosis juga dihubungkan dengan jalur signal-regulated kinase (ERK), Akt, Bcl 2 dan p38 mitogen-activated kinase (MAPK). Pertumbuhan sel kanker pankreas membutuhkan ekspresi PAP sehingga menekan apoptosis dari sel kanker. PAP, salah satu antiapoptosis yang diinduksi oleh *tumor necrosis factor* α (TNF α) melalui NF- κ B dan MAPK pada sel asinar kanker pankreas. Hal ini ditunjukkan bahwa aktivasi jalur NF- κ B , Akt, dan MAPK sering dihubungkan dengan transduksi sinyal anti apoptosis yang berhubungan dengan agen kemoterapi (41).

Gemcitabine® menginduksi perubahan ekspresi gen yang berhubungan dengan apoptosis di sel PANC-1. Gemcitabine® menurunkan ekspresi anti-apoptosis PAP, dan menaikkan ekspresi pro-apoptosis TP53INP1 dan phospho-GSK-3 β . Gemcitabine® menaikkan NF- κ B dan mengaktivasi p38 MAPK, PK1 dan PCI 43. TP53INP1 adalah gen yang diaktivasi oleh p53 bersama dengan HIPK2 mempromosikan fosforilasi p53 pada Ser 46 dan kemudian menginduksi apoptosis. Gemcitabine® berpengaruh terhadap aktivitas GSK-3 β pada sel PANC-1, diketahui dengan mengukur level fosforilasi GSK-3 β pada serine 9 sebagai indikasi inaktivasi GSK-3 β menjadi phospho-GSK-3 β . Selama RE

tertekan, p53 dihambat melalui mekanisme fosforilasi pada serine 315 dan ser 376 oleh GSK-3 β . GSK-3 β berperan penting pada sel agar tetap survive yang dimediasi oleh NF- κ B. Nicole et al melaporkan bahwa Gemcitabine melewati jalur *caspase dependent* pada kanker pankreas (41).

II.8 Histologi

Histologi (dari bahasa Yunani: *histo* = jaringan, dan *logos* = ilmu) adalah pelajaran tentang sel dan matriks ekstraselular dari jaringan. Ukuran sel dan matriks ekstraselular yang kecil membuat perkembangan histologi bergantung pada penggunaan dan pengembangan mikroskop. Kemajuan dalam ilmu kimia, fisiologi, imunologi, dan patologi serta interaksi antar disiplin ilmu tersebut memberikan pengetahuan yang lebih baik mengenai biologi jaringan (42).

II.8.1 Sel darah putih

Leukosit atau sel darah putih adalah sel yang mengandung inti. Dalam darah manusia normal terdapat jumlah leukosit rata-rata 5000-9000 sel per milimeter kubik. Ada dua golongan utama leukosit yaitu yang agranular dan yang granular: (42)

1. Leukosit granular diberi nama sesuai dengan reaksi pemulasan pada granula sitoplasmanya
 - a. Eosinofil (43,44,45)

merupakan jenis leukosit yang memiliki granular spesifik dengan pewarnaan asam seperti eosin. Ciri khas sitoplasmanya adalah

mengandung granular kasar refraktil yang seragam ukurannya, granular tampak mengandung peroksidase, demikian juga sejumlah enzim hidrolitik. Granula berwarna merah tua dan jarang dijumpai lebih dari 3 hidrolitik. Waktu transit eosinofil dalam darah lebih lama daripada neutrofil.

b. Basofil (43,44)

merupakan leukosit dengan granula yang mengandung afinitas terhadap perwarna basa. Sel-sel basofil dalam darah sukar ditemukan karena jumlahnya hanya 0,5-1% dari jumlah total leukosit. Batas inti sering tidak teratur dan untuk sebagian terbagi 2 lobus. Granula sitoplasma bulat kasar dengan ukuran berbeda-beda.

c. Neutrofil

merupakan jenis leukosit dengan granula spesifik yang tidak jelas asidofil maupun basofil. Neutrofil juga dikenal sebagai polimorf yaitu singkatannya dari leukosit polimorfonuklir. Neutrofil memiliki granula kecil berwarna merah muda dalam sitoplasma. Neutrofil bersifat sangat fagositik dan sangat aktif (15). Garis tengahnya 12-15 pm, dengan sebuah inti terdiri atas 2-5 lobus (biasanya 3 lobus) yang saling berikatan melalui benang kromatin halus. Neutrofil muda (bentuk batang) memiliki inti tanpa segmen dalam bentuk tapal kuda (45).

Neutrofil membentuk pertahanan terhadap invasi mikroorganisme, terutama bakteri. Neutrofil merupakan fagosit aktif

terhadap partikel kecil dan kadang-kadang disebut sebagai mikrofas untuk membedakannya dari makrofas (sel yang lebih besar).

2. Non granular adalah leukosit tanpa granula sitoplasma, yaitu limfosit dan monosit.

a. Limfosit (45)

merupakan sel bulat dengan diameter bervariasi antara 6-8 μm . Intinya relatif besar disekitar sitoplasma sempit. Inti tampak bulat dan pada umumnya menunjukkan lekukan pada satu sisi.

b. Monosit (45)

biasanya berukuran lebih besar dari leukosit darah lainnya dan mengandung inti sentral berbentuk lonjong atau berlekuk dengan kromatin yang mengumpal. Sitoplasmanya yang banyak berwarna biru.

Tabel 1. Ukuran dan jumlah sel darah manusia (46)

Sel	Ukuran	Jumlah
Eritrosit	6,5 – 8 μm (rata-rata = 7,5 μm)	Pria 4,1-6 x 10 ⁶ / μl Wanita 3,9-5,5 x 10 ⁶ / μl
Leukosit		6.000 – 10.000/ μl
Neutrofil	12 – 15 μm	60 – 70 %
Eosinofil	12 – 15 μm	2 – 4 %
Basofil	12 – 15 μm	0 – 1 %
Limfosit	6 – 18 μm	20 – 30 %
Monosit	12 – 20 μm	3 – 8 %
Trombosit	2 - 4 μm	200.000 – 400.000/ μl

II.9 Uraian Hewan Uji

II.9.1 Sifat-Sifat Mencit

Mencit (*Mus musculus*) adalah hewan pengerat (rodentia) yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta sifat anatomi dan fisiologinya terkarakterisasi dengan baik. Mencit hidup dalam daerah yang luas penyebarannya mulai dari iklim dingin, sedang maupun panas dan dapat hidup terus menerus dalam kandang atau secara bebas sebagai hewan liar. Mencit dapat mencapai umur 2-3 tahun. Mencit paling banyak digunakan di laboratorium untuk berbagai penelitian dan yang sering digunakan adalah mencit albino Swiss (47).

II.9.2 Cara Pemilihan dan Penyiapan Mencit

Hewan yang digunakan harus sehat, tidak menunjukkan kelainan yang berarti. Mencit yang digunakan adalah mencit albino dengan berat 20-35 g. Sekurang-kurangnya dua minggu sebelum pengujian, hewan sudah harus dipelihara dan dirawat sebaik-baiknya (47).

II.9.3 Cara Penanganan Mencit

Mencit bila diperlakukan dengan halus akan mudah dikendalikan. Sebaliknya bila diperlakukan dengan kasar, mereka akan menjadi agresif dan bahkan menggigit. Mencit dapat dikekang dengan cara memegang ekornya dengan jari atau pinset yang ujungnya dilapisi karet, sedangkan tangan kanan memegang bagian leher (47).

Untuk tujuan penyuntikan dan pemeriksaan mencit diangkat ekornya lalu ditempatkan pada permukaan kasar sehingga mencit terdiam karena kakinya berpegang pada permukaan kasar tersebut. lalu tangan yang satu memegang punggung dan leher (47).