

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Kanker kolorektal (KKR) adalah kanker ganas yang menyerang usus besar dan/atau rektum (Kemenkes RI., 2015). Kanker kolorektal merupakan kanker terbanyak ketiga di dunia dan penyebab kematian nomor dua di antara semua jenis kanker setelah kanker paru pada tahun 2020 (*World Health Organization. 2021a*). Di Indonesia, kanker kolorektal merupakan kanker terbanyak keempat setelah kanker payudara, serviks, dan paru. Berdasarkan jenis kelamin, KKR ini tertinggi kedua pada laki-laki dan tertinggi kelima pada perempuan (*World Health Organization. 2021b*).

Berdasarkan data *Global Burden of Cancer Study (GLOBOCAN)* 2020, terdapat sekitar 1,93 juta kasus baru kanker kolorektal, di mana lebih dari 930.000 mengakibatkan kematian. Kanker kolorektal merupakan penyebab kedua kematian akibat keganasan pada pria dan wanita di seluruh dunia, setelah kanker paru-paru. Ditemukan 515.637 kematian pada pria dan 419.536 pada wanita. Jumlah kasus KKR di Indonesia pada tahun 2020 sebesar 8,6% atau 34.189 kasus dari total kejadian tumor ganas di Indonesia (GLOBOCAN., 2020).

Tingginya mortalitas dan morbiditas KKR membutuhkan metode diagnostik dan prognostik yang mendukung perawatan pasien. Usus besar dapat didiagnosis berdasarkan gejala dan tanda yang



sangat bervariasi dan bergantung pada lokasi kanker. Kanker usus besar kanan biasanya muncul dengan gejala dan tanda dispepsia, penurunan berat badan, dan anemia, dan jarang menyebabkan striktur karena tinja masih cair (Glynne-Jones, et al., 2015).

Faktor utama terjadinya kematian pada penderita KKR karena adanya metastasis, yaitu salah satu faktor yang sangat berperan dalam pertumbuhan KKR dan metastasis yaitu karena adanya angiogenesis (Minjahat R. 2017; 2021). Dalam progresi pertumbuhan tumor, pembentukan pembuluh darah baru (neovaskularisasi) untuk suplai nutrisi dan oksigen adalah suatu tahapan yang penting, yang disebut juga sebagai *angiogenic switch* (Schulz WA. 2005; Bronchuld MH, et al. 2008; Ribatti & Vacca. 2008; Kumar V, et al. 2013; Nussenbaum & Herman. 2010).

Stres oksidatif berperan penting dalam patofisiologi penuaan dan berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, diabetes dan komplikasinya, serta aterosklerosis yang mendasari penyakit jantung, penyakit pembuluh darah, dan stroke (Setiati, S. 2003; Shihabi, et al. 2002; Giacco & Brownlee. 2007). Tubuh membutuhkan antioksidan untuk mengatasi dan mencegah stres oksidatif. Beberapa bahan alami asli Indonesia kaya akan antioksidan dengan berbagai bahan aktifnya. Pemanfaatan bahan alam Indonesia sebagai antioksidan diperlukan untuk meningkatkan kualitas kesehatan masyarakat dengan biaya yang relatif terjangkau (Asri Werdhasari. 2014).



mponen aktif dari racun lebah madu adalah melittin, yang terdiri dari n dari berat kering racun lebah madu (Park, S.C., et al. 2006; Lyu,

Y., et al. 2015). Melittin adalah peptida 26-asam amino bermuatan positif, amphipatik yang berasosiasi dengan fosfolipid bilayer membran, menyebabkan kematian sel dengan membentuk pori-pori toroidal transmembran berdiameter ~4,4 nm yang memungkinkan internalisasi molekul kecil tambahan dengan aktivitas sitotoksik (Lyu, Y, et al. 2015; Lee, et al. 2013; Sun, D., et al. 2015).

Mellitin dari racun telah menunjukkan efek antitumor pada melanoma, kanker paru-paru non-sel kecil (Gao, D. et. A;. 2018), glioblastoma (Sisakht, M, et al. 2017), leukemia, ovarium (Jo, M. et al. 2012), serviks (Zarrinnahad, H. et al. 2018), dan kanker pankreas (Wang, X. et al. 2018), dengan potensi sitotoksik yang lebih tinggi pada sel kanker dibandingkan dengan sel yang tidak bertransformasi (Ciara, D., et al. 2020).

Stres oksidatif dapat menurunkan kadar antioksidan dan memicu terjadinya perkembangan penyakit akibat dari peningkatan produksi radikal bebas. Tubuh biasanya dilindungi dari stres oksidatif oleh antioksidan seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (Cat), *glutathion peroxidase* (GSH-Px), GRed, *glutathione* (GSH), asam urat dan bilirubin (Nair et al., 2012; Hapsah R, et al. 2014).

Jalur yang bergantung pada *nuclear factor-erythroid 2 related factor 2* (NRF2) adalah salah satu mekanisme pertahanan seluler utama terhadap stres oksidatif yang terlibat dalam perlindungan terhadap peradangan di

i jaringan. Peradangan merupakan faktor risiko potensial untuk  
a jenis kanker lainnya. Telah ditunjukkan sebelumnya bahwa jalur



pensinyalan NRF2 diaktifkan secara tidak normal pada KKR. Ekspresi gen NRF2 dapat secara langsung diatur oleh *Kelch ECH-associated protein 1* (Keap1), yang merupakan protein adaptor yang terlibat dalam ubiquitination dan degradasi NRF2. Selain itu, fungsi yang tepat dari Keap1 dan NRF2 sangat penting untuk mencegah onkogenesis pada sel usus besar (Mohammad Resa Sadeghi, et al. 2018).

Dalam kondisi normal, aktivasi NRF2 dapat mencegah perkembangan KKR, termasuk mengurangi proliferasi sel kanker usus besar dan meningkatkan apoptosis sel kanker usus besar. Namun, ekspresi NRF2 yang berlebihan juga dapat memiliki efek negatif, dengan menciptakan lingkungan terbaik untuk pertumbuhan sel untuk meningkatkan kelangsungan hidup sel normal dan sel kanker, melindungi sel tumor dari stres oksidatif, obat kemoterapi, dan radioterapi, dan meningkatkan perkembangan tumor (Gonzalez-Donquiles C, et al. 2017). Dalam beberapa tahun terakhir, sebagian besar penelitian telah menunjukkan bahwa beberapa senyawa alami dapat mengobati dan mencegah KKR dengan mengaktifkan NRF2 (Jiaxiang Li, et al. 2022).

Spesies reaktif yang diproduksi di dalam sel selama metabolisme seluler normal dapat bereaksi secara kimiawi dengan biomolekul seluler seperti asam nukleat, protein, dan lipid, sehingga menyebabkan modifikasi oksidatif yang mengarah pada perubahan komposisi dan potensi kerusakan aktivitas selulernya. Setiap gangguan dalam keseimbangan tingkat dan spesies reaktif menghasilkan kondisi fisiologis yang disebut



"stres oksidatif". Katalase adalah salah satu enzim antioksidan penting yang mengurangi stres oksidatif secara luas dengan menghancurkan hidrogen peroksida seluler untuk menghasilkan air dan oksigen. Kekurangan atau kerusakan katalase dipostulatkan terkait dengan patogenesis banyak penyakit salah satunya adalah kanker (Ankita Nandi, et al. 2019).

Namun kurangnya penelitian terkait peran peptida mellittin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap ekspresi gen NRF2 dan gen katalase pada sel kanker kolorektal (sel WiDr), sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian ini.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti menarik rumusan masalah yaitu “bagaimanakah peran peptida mellitin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap ekspresi gen NRF2 dan gen katalase pada sel kanker kolorektal (sel WiDr) ?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana peran peptida mellitin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap ekspresi gen NRF2 dan gen katalase pada sel kanker kolorektal (sel WiDr).

### **2. Tujuan Khusus**

a. Diketuinya nilai IC<sub>50</sub> mellitin dan doksorubisin terhadap kultur sel kanker kolorektal (sel WiDr).



- b. Diketuainya peran peptida mellitin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap ekspresi gen NRF2 pada sel kanker kolorektal (sel WiDr).
- c. Diketuainya peran peptida mellitin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap ekspresi gen katalase pada sel kanker kolorektal (sel WiDr).

#### **D. Manfaat Penelitian**

##### **1. Manfaat Teoritis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan masukan dan khasanah ilmiah kepada masyarakat khususnya tenaga kesehatan dan dokter terkait peran peptida mellitin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap gen NRF2 dan gen katalase pada sel kanker kolorektal (sel WiDr).

##### **2. Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan rujukan untuk penelitian selanjutnya yang terkait dengan peran peptida mellitin dari racun lebah (*Apis mellifera*) terhadap gen NRF2 dan gen katalase pada sel kanker kolorektal (sel WiDr).



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Kanker Kolorektal

##### 1. Definisi

Kanker usus besar atau kanker kolorektal (KKR) adalah kanker ganas yang muncul di usus besar, yang terdiri dari usus besar (bagian usus besar yang terpanjang) dan/atau rektum (bagian kecil usus besar terakhir sebelum anus) (Society AC. 2014).

Kanker kolorektal merupakan tumor ganas yang muncul dari jaringan epitel usus besar atau rektum. Kanker kolorektal mengacu pada tumor ganas di usus besar dan rektum. Usus besar dan rektum adalah bagian dari usus besar saluran pencernaan, juga dikenal sebagai saluran pencernaan. Lebih khusus lagi, usus besar terletak di bagian proksimal usus besar dan rektum terletak di distal, kira-kira 5-7 cm di atas anus. Usus besar dan rektum berfungsi untuk menghasilkan energi bagi tubuh dan membuang zat-zat yang tidak berguna (Harapap 2004 dalam Sayuti & Nouva. 2019).

Kanker kolorektal memiliki insiden yang rendah beberapa dekade yang lalu. Namun, kanker ini telah menjadi kanker yang dominan dan sekarang menyumbang sekitar 10% dari kematian akibat kanker di

a-negara barat. Peningkatan KKR di negara maju dapat dikaitkan dengan populasi yang semakin menua, kebiasaan pola makan modern



yang kurang baik, dan peningkatan faktor risiko seperti merokok, kurang olahraga, dan obesitas (Ernst, J, et al. 2015).

## 2. Faktor Risiko

Secara umum, faktor risiko yang menyebabkan terjadinya kanker kolorektal dapat dikategorikan menjadi dua, yakni faktor yang dapat dimodifikasi dan yang tidak dapat dimodifikasi. Riwayat pribadi dan keluarga dari kanker kolorektal dan riwayat individu penyakit radang usus kronis merupakan faktor yang tidak dapat dimodifikasi. Inaktivitas, obesitas, konsumsi tinggi terhadap daging merah, merokok dan konsumsi alkohol termasuk faktor yang dapat dimodifikasi (Society AC. 2014).

Faktor genetik dan lingkungan berperan penting dalam etiologi KKR. Sebagian populasi barat, rata-rata risiko untuk KKR berada pada kisaran 3-5%. Namun, risiko ini hampir dua kali lipat pada individu yang memiliki anggota keluarga dengan KKR yang didiagnosis pada usia 50-70 tahun, risikonya meningkat tiga kali lipat jika anggota keluarga tersebut berusia <50 tahun pada saat didiagnosis. Risiko semakin meningkat pada individu yang memiliki dua atau lebih anggota keluarga yang menderita KKR. Oleh karena itu, riwayat keluarga yang positif memiliki peran pada sekitar 15 – 20% pasien KKR (Ernst, J, et al. 2015).

Faktor risiko KKR herediter kedua yang paling umum adalah *familial adenomatous polyposis*. Sindrom ini disebabkan oleh mutasi gen *adenomatous polyposis coli* (APC), yang mengontrol aktivitas



jalur sinyal Wnt (Vasen HFA, et al. 2015). Sebagian besar pasien dengan poliposis adenomatosa familial mengembangkan adenoma kolorektal dalam jumlah yang sangat besar dan kemudian menjadi KKR pada usia muda. Sindrom KKR herediter lainnya adalah poliposis yang terkait dengan mutasi pada gen *mutY DNA glycosylase* (MUTYH), sindrom *Peutz Jeghers*, poliposis bergerigi, dan poliposis juvenil (Vasen HFA, et al. 2015).

Berbagai faktor gaya hidup yang sebagian besar dapat dimodifikasi mempengaruhi risiko terkena KKR. Risiko ini meningkat akibat kebiasaan merokok, asupan alkohol, dan peningkatan berat badan. Dengan setiap unit peningkatan indeks massa tubuh, risiko KKR meningkat sebesar 2–3%. Dalam hubungan yang erat, pasien dengan diabetes mellitus tipe 2 juga memiliki peningkatan risiko KKR (Guraya, SY. 2015). Konsumsi alkohol dalam jumlah sedang (2–3 unit per hari) diperkirakan dapat meningkatkan risiko sebesar 20%, sedangkan konsumsi alkohol yang lebih tinggi lagi dikaitkan dengan peningkatan risiko hingga 50% (Fedirko V, et al. 2011). Kolitis kronis akibat *inflammatory bowel disease* (IBD) juga dikaitkan dengan peningkatan risiko KKR. Risiko ini meningkat dengan durasi IBD yang lebih lama (Jess, T., et al. 2012).

### 3. Epidemiologi



*Global Cancer Observatory* (2020) mengemukakan bahwa an KKR merupakan jenis kanker paling umum ketiga di dunia,

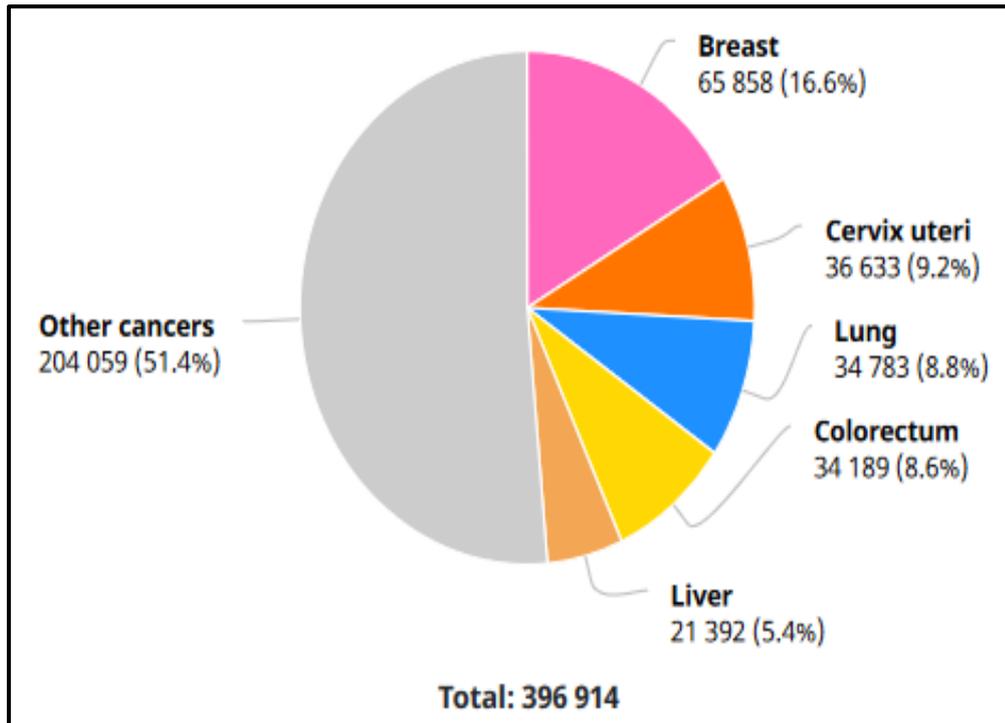
setelah kanker payudara dan kanker paru-paru. Kanker kolorektal lebih sering terjadi pada pria (10,6%) dibandingkan wanita (9,4%) dan tiga sampai empat kali lebih sering terjadi di negara maju daripada di negara berkembang (Globocan, 2020).

Secara umum, kejadian KKR sangat bervariasi di belahan dunia. Pada tahun 2020, China dan Amerika Serikat adalah negara dengan jumlah kasus KKR tertinggi dan diperkirakan akan terus terjadi peningkatan selama 20 tahun ke depan. Pada tahun 2040, jumlah kasus KKR di China diperkirakan akan meningkat dari 560.000 dan 160.000 kasus pada tahun 2020 menjadi 910.000 dan 210.000 kasus pada tahun 2040 (Xi Y et al., 2020).

Kanker kolorektal adalah jenis kanker terbanyak ketiga di Indonesia. Pada tahun 2008, Indonesia menempati urutan keempat di antara negara-negara ASEAN dengan insiden 17,2 kasus per 100.000 penduduk, dan angka ini diperkirakan akan meningkat dari tahun ke tahun (Kimman, et al. 2012). Studi epidemiologi sebelumnya menunjukkan bahwa pasien kanker kolorektal di Indonesia lebih muda dibandingkan dengan pasien kanker kolorektal di negara maju. Lebih dari 30% kasus terjadi pada pasien berusia 40 tahun atau lebih muda, sedangkan di negara maju hanya 2-8% yang berusia di bawah 50 tahun (Sayuti & Nouva. 2019). Pada tahun 2020, jumlah kejadian KKR di

esia sebesar 8,6% atau 34.189 kasus dari total kejadian tumor ; di Indonesia (GLOBOCAN, 2020).





Gambar 1. Insiden Penyakit Kanker di Indonesia Tahun 2020. (GLOBOCAN, 2020)

## 5. Patofisiologi

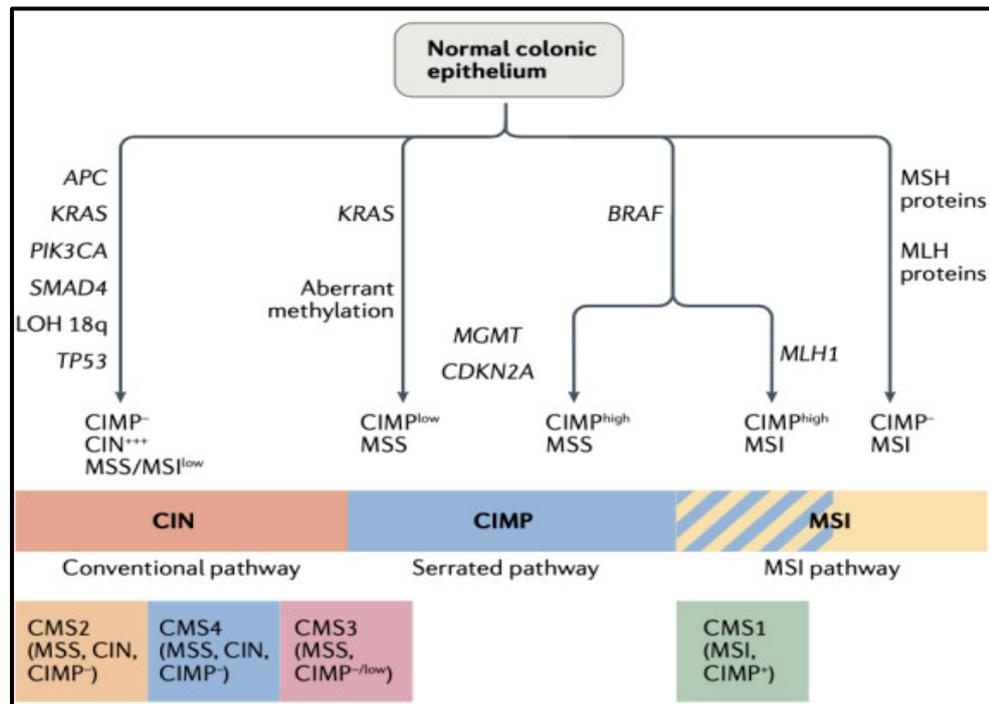
Kanker kolorektal (KKR) merupakan penyakit kelainan genetik yang bersifat heterogen dan berkembang melalui tiga jalur utama, yaitu *chromosomal instability* (CIN), *CpG island methylator phenotype* (CIMP), dan *microsatellite instability* (MSI) dapat dilihat pada Gambar 2 (Hong, 2018; Recio-Boiles and Cagir, 2021; Schmitt and Greten, 2021). Sebagian besar kasus KKR berkembang dari polip adenomatous. Polip ini muncul sebagai tonjolan pada permukaan lapisan usus (Mayer, 2017). Polip ini kemudian berkembang menjadi kanker usus besar karena mengalami displasia yang disebabkan oleh beberapa kelainan genetik. Proses ini memakan waktu sekitar 10 tahun untuk mutasi KKR sporadis dan lebih cepat untuk mutasi KKR yang diwariskan (familial) (Parencevich, et al., 2017; Franklin et al, 2020).



Sebagian besar kanker kolorektal muncul dari adenoma sebagai lesi prekursor. Sebagai akibat dari ketidakstabilan genetik dan epigenetik, serangkaian perubahan genetik terjadi yang mengubah sel epitel normal usus besar menjadi sel karsinoma. Hilangnya stabilitas genom merupakan langkah penting dalam terjadinya perubahan molekuler pada tahap awal tumorigenesis kolorektal. Setidaknya ada tiga jalur karsinogenik yang diketahui, yaitu jalur ketidakstabilan kromosom (CIN), jalur ketidakstabilan mikrosatelit (MSI) dan jalur *methylation/CpG islet methylator phenotype* (CIMP) (Fleming, M., et al. 2012; Farah, P.R., 2021).

Patogenesis KKR juga berhubungan secara signifikan dengan lokasi KKR. Kanker di usus besar kanan mengalami mutasi pada CIMP, MSI dan BRAF. Ketiganya berkorelasi dengan prognosis yang jauh lebih buruk pada pasien dengan kanker usus besar kanan dibandingkan pada pasien dengan kanker usus besar kiri dan kanker rektal. Pada saat yang sama, jalur CIN mempromosikan kanker di usus besar dan rektum kiri (Salem MA et al, 2017).





Gambar 2. Tiga Jalur Utama Patogenesis *Colorectal Cancer* (Schmitt and Greten, 2021)

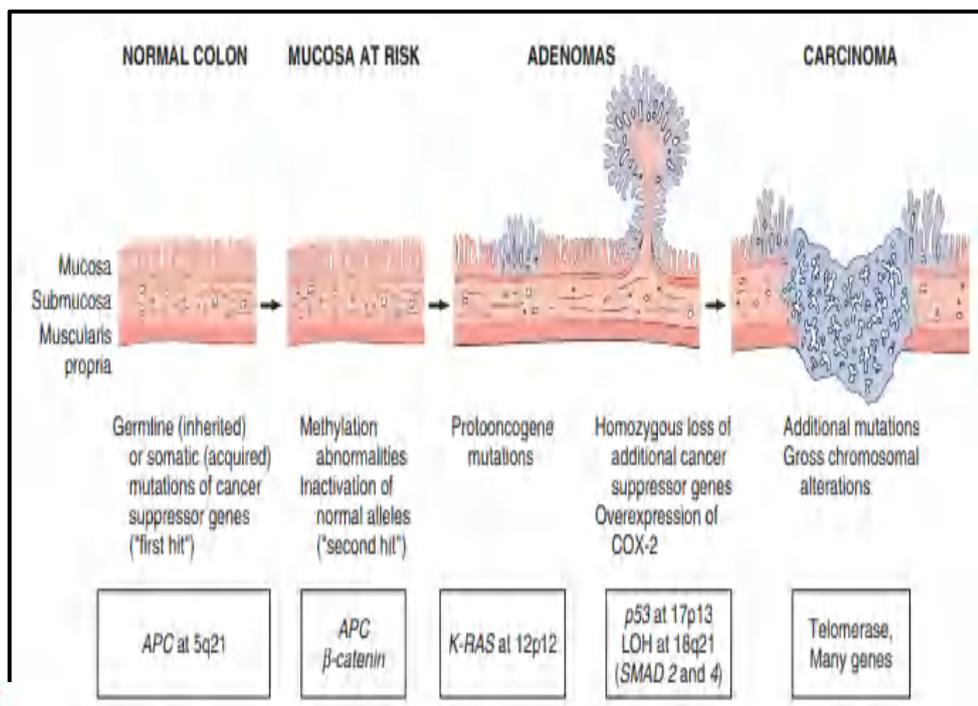
a. *Chromosomal instability* (CIN)

Sekitar 70% kanker kolorektal yang berkembang melalui jalur CIN ditandai dengan ketidakseimbangan jumlah kromosom (aneuploidi), amplifikasi genom kromosom, dan heterozigositas frekuensi tinggi (LOH). Jalur CIN juga merupakan mutasi onkogenik yang tidak seimbang oleh penekan tumor seperti *adenomatous polypopsis coli* (APC), *kirsten rat sarcoma virus* (KRAS), subunit *phospatidylinositol-4,5-biphosphate 3-kinase catalytic* (PIK3CA) dan tumor protein-53 (TP53). Gen DNA ini terjadi kerusakan lebih lanjut

am kondisi normal gen DNA dalam kerusakan DNA sel normal. reproduksi, yang juga disertai dengan aktivasi onkogen.



Mengganggu keseimbangan antara aktivasi onkogen dan aktivasi gen penekan tumor menyebabkan mutasi sel menjadi kanker. Mutasi APC mengakibatkan hilangnya fungsi APC sebagai regulator negatif  $\beta$ -catenin, membuat  $\beta$ -catenin mudah berikatan dengan faktor sel-T nuklir/faktor penambah limfoid (TCF/LEF). Ini mengarah pada aktivitas berlebihan dalam perkembangan dan reproduksi sel-sel dalam tubuh. Proliferasi sel ini merupakan tahap awal perkembangan kanker. Mutasi KRAS dan PIK3CA membuat protein ini selalu aktif, menghasilkan pensinyalan dan aktivasi berkelanjutan dari beberapa jalur pensinyalan sel lainnya seperti proliferasi sel dan pertumbuhan sel (Recio-Boiles dan Cagir, 2021; Schmitt dan Greten, 2021).

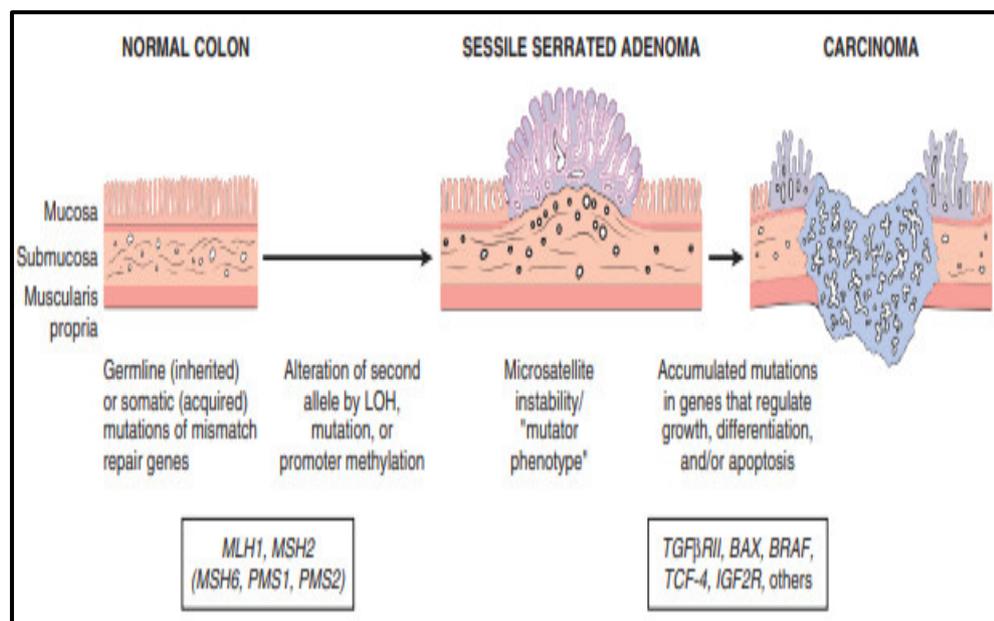


gambar 3. Jalur *Chromosomal Instability* (CIN) (Kumar K *et al*, 2020)



b. *Microsatellite instability (MSI)*

*Microsatellite instability (MSI)* adalah suatu kondisi perubahan genetik yang terkait dengan penghapusan dan penyisipan yang menyebabkan peningkatan malformasi jaringan yang pada akhirnya menyebabkan kanker. Kehadiran MSI mempengaruhi inaktivasi gen *mismatch repair (MMR)* atau mutasi gen *mutL homolog 1 (MLH1)* dan *mutL homolog 1 (MSH2)*. Inaktivasi gen MMR merusak proses dan efisiensi sistem perbaikan *deoxyribonucleat acid (DNA)* dan menyebabkan kesalahan replikasi. Kesalahan replikasi ini secara langsung memengaruhi jalur molekuler lain, seperti apoptosis sel B. dan gen penekan tumor (Schmitt dan Greten, 2021).



Gambar 4. Jalur *Microsatellite Instability (MSI)* (Kumar K et al, 2020)



*CpG island methylation phenotype (CIMP)*

*CpG island methylation phenotype (CIMP)* adalah bagian dari DNA yang didominasi dalam arah linier 5'-3' oleh nukleotida

sitosin dan guanin. Nukleotida CpG dapat dimetilasi dengan menambahkan gugus metil dengan enzim DNA metiltransferase untuk membentuk gugus metilsitosin. Metilasi sitosin yang menyertai perubahan fenotipik tanpa mengubah sekuens atau urutan DNA disebut epigenetik. Pulau CpG di wilayah promotor DNA biasanya tidak termetilasi, tetapi metilasi terjadi di wilayah promotor DNA selama pengembangan KKR, yang dapat mengubah fenotipe DNA yang dikenal sebagai fenotipe metilasi pulau CpG (CIMP). CpG *island methylation phenotype* (CIMP) menyebabkan kelainan pada gen penekan tumor sehingga faktor transkripsi yaitu *B-rapidly accelerated fibrosarcoma* (BRAF) dan MLH1 menjadi tidak aktif (Recio-Boiles dan Cagir, 2021; Schmitt dan Greten, 2021).

## 6. Manifestasi Klinis

Gejala umum dari KKR ditandai dengan perubahan kebiasaan buang air besar (BAB), gejala tersebut meliputi antara lain:

- a. Perut terasa penuh
- b. Diare atau sembelit
- c. Ditemukan darah saat buang air besar
- d. Tinja yang dikeluarkan lebih sedikit dari biasanya
- e. Terjadi penurunan berat badan tanpa penyebab yang diketahui
- f. Merasa lelah sepanjang waktu

ual atau muntah (Alteriet, et al. 2012).



Distribusi gejala klinis pada pasien kanker kolorektal hampir merata, dan gejala lain yang dikeluhkan pasien masih bervariasi. Keluhan yang paling umum adalah tinja berdarah, tetapi keluhan ini sangat umum dengan keluhan dari gangguan pencernaan lainnya dan dapat menunda diagnosis pasien dan pengobatan yang tepat (Sanjaya, I.W.B., et al. 2023).

## 7. Diagnosis

Diagnosis KKR didasarkan pada anamnesis, pemeriksaan fisik, dan pemeriksaan penunjang. Keluhan utama dan pemeriksaan fisik yang diamati pada semua kelompok umur adalah perdarahan peranal dengan peningkatan frekuensi buang air besar dan/atau diare selama minimal 6 minggu, massa fosa panggul kanan teraba, tanda-tanda obstruksi mekanik, dan anemia defisiensi besi. Pada pasien berusia di atas 60 tahun, kanker kolorektal dicurigai jika terjadi perdarahan peranal tanpa gejala anal atau peningkatan frekuensi buang air besar atau diare selama minimal 6 minggu (Mersy S.P & Luciana R. 2019).

Diagnosis kanker kolorektal dapat bertahap dan melibatkan anamnesis yang tepat, pemeriksaan fisik, dan tes laboratorium pendukung baik di laboratorium klinik maupun laboratorium patologi anatomi. Selain itu, pemeriksaan pencitraan seperti foto polos atau pemeriksaan kontras (barium enema), kolonoskopi, *computed graphy* (CT) scan, *magnetic resonance imaging* (MRI) dan



ultrasonografi (USG) *transrectal* juga diperlukan untuk mendiagnosis penyakit ini (Tambunan dalam Sayuti & Nouva. 2019).

Sekitar 70-75% kanker usus besar terletak di daerah rektosigmoid. Keadaan ini sesuai dengan letak polip kolitis ulserativa, dimana hampir 95% polip kolitis ulserativa terletak di daerah rektal. Sekitar 10% kanker kolorektal terletak di sekum dan 10% di kolon asenden. Secara makroskopik, ada tiga jenis karsinoma kolon dan rektum. Jenis polipoid atau vegetatif tumbuh dengan menonjol ke dalam rongga usus dan ditemukan terutama di sekum dan kolon asenden. Jenis scirus menyebabkan penyempitan yang mengakibatkan striktur dan gejala obstruktif yang terjadi terutama pada kolon desenden, kolon sigmoid, dan rektum. Bentuk ulseratif disebabkan oleh nekrosis sentral rektum. Pada stadium lanjut, sebagian besar karsinoma usus besar memborok menjadi pertumbuhan ganas (Sayuti & Nouva. 2019).

## 8. Pemeriksaan

Pemeriksaan penunjang untuk KKR antara lain:

- a. Pemeriksaan darah,
- b. Darah samar feses, dan
- c. Pemeriksaan radiologi yang disarankan seperti enema dengan *Double Contrast*, *CT Scan* abdomen dan pemeriksaan kolonoskopi untuk membantu mene-gakkan diagnosis (Kemenkes RI. 2015 dalam

arsy & Luciana. 2019).



## 9. Penatalaksanaan

Pilihan pengobatan untuk KKR termasuk pembedahan dan kemoterapi adjuvan. Perawatan bedah seperti pengangkatan total tumor jika memungkinkan, diikuti dengan biopsi untuk memeriksa metastase. Kemoterapi adjuvan memainkan peran penting pada pasien berisiko tinggi. Studi menunjukkan bahwa kasus di mana operasi KKR diikuti dengan kemoterapi berbasis 5-FU *adjuvant* memberikan manfaat dalam hal kelangsungan hidup bebas penyakit (Stinzing S. 2014).

## 10. Stadium

Klasifikasi stadium kanker kolorektal berdasarkan TNM, dari *American Joint Committee on Cancer* adalah sebagai berikut (Shead et al., 2018): 1

### a. Tumor Primer (T):

- 1) Tx: Tumor primer tidak dapat dinilai
- 2) T0: Tidak terdapat tumor primer
- 3) Tis: Karsinoma in situ: invasi dari lamina propria atau terbatas di intraepitelial
- 4) T1: Tumor menginvasi hingga ke submukosa
- 5) T2: Tumor menginvasi hingga ke muskularis propria
- 6) T3: Tumor menginvasi melalui muskularis propria ke subserosa
- 7) T4a: Tumor menembus peritoneum visceral
- 8) T4b: Tumor telah menyebar ke jaringan atau organ di sekitar usus besar



b. Penyebaran pada kelenjar getah bening (KGB) regional (N):

- 1) NX: KGB regional tidak dapat dinilai
- 2) N0: Tidak ada metastasis pada KGB
- 3) N1: Metastasis pada 1-3 KGB
- 4) N2a: Metastasis pada 4-6 KGB
- 5) N2b: Metastasis pada  $\geq 7$  KGB

c. Metastasis Jauh (M)

- 1) M0: Tidak dapat menilai ada tidaknya metastasis
- 2) M1a: Metastasis pada 1 organ jauh
- 3) M1b: Metastasis pada  $>1$  organ jauh

Stadium KKR dapat dilihat sebagai berikut:

- a. Stadium 0 : Tis – N0 – M0
- b. Stadium I : T1-2 – N0 – M0
- c. Stadium IIa : T3 – N0 – M0
- d. Stadium IIb : T4a – N0 – M0
- e. Stadium IIc : T4b – N0 – M0
- f. Stadium IIIa : T1-2 – N1 – M0; T1 – N2a – M0; T1-2 – N2b – M0
- g. Stadium IIIc : T4a – N2a – M0; T3-4a – N2b – M0; T4b – N1-2 – M0
- h. Stadium IV : Semua T – Semua N – M1a-b

Berdasarkan pembagian stadium tersebut, dapat diartikan sebagai berikut:



Stadium 0 : Karsinoma in situ & tidak invasive. Kanker belum melewati lapisan pertama dinding kolon.

- b. Stadium 1: Kanker sudah bertumbuh hingga lapisan kedua atau ketiga dari dinding kolon. Tidak ada metastasis pada KGB atau organ jauh.
- c. Stadium 2: Kanker mencapai atau melewati lapisan ke empat dari dinding kolon. Tidak ada metastasis dekat KGB atau organ jauh.
- d. Stadium 3: Kanker telah bermetastasis dari kolon hingga sekitar KGB.
- e. Stadium 4: Kanker telah bermetastasis hingga ke organ yang jauh dari kolon. Biasanya paru dan hepar yang pertama terkena

## 11. Prognosis

Berdasarkan stadiumnya, kanker kolorektal stadium I dan II mempunyai prognosis yang lebih baik dibandingkan dengan kanker kolorektal yang sudah mencapai stadium III dan IV. Berdasarkan Panduan Penatalaksanaan Kanker Kolorektal yang dikeluarkan oleh Kementerian Kesehatan RI, prognosis dari kanker kolorektal sebagai berikut.

Tabel 1. Prognosis Kanker Kolon dan Kanker Rektum (Retno, N.L., 2020)

KANKER KOLON		KANKER REKTUM	
STADIUM	<i>5 years survival</i>	STADIUM	<i>5 years survival</i>
I	92%	I	87%
IIA	87%	IIA	80%
IIB	63%	IIB	49%
IIIA	89%	IIIA	84%
IIIB	69%	IIIB	71%
IIIC	53%	IIIC	58%
IV	11%	IV	12%

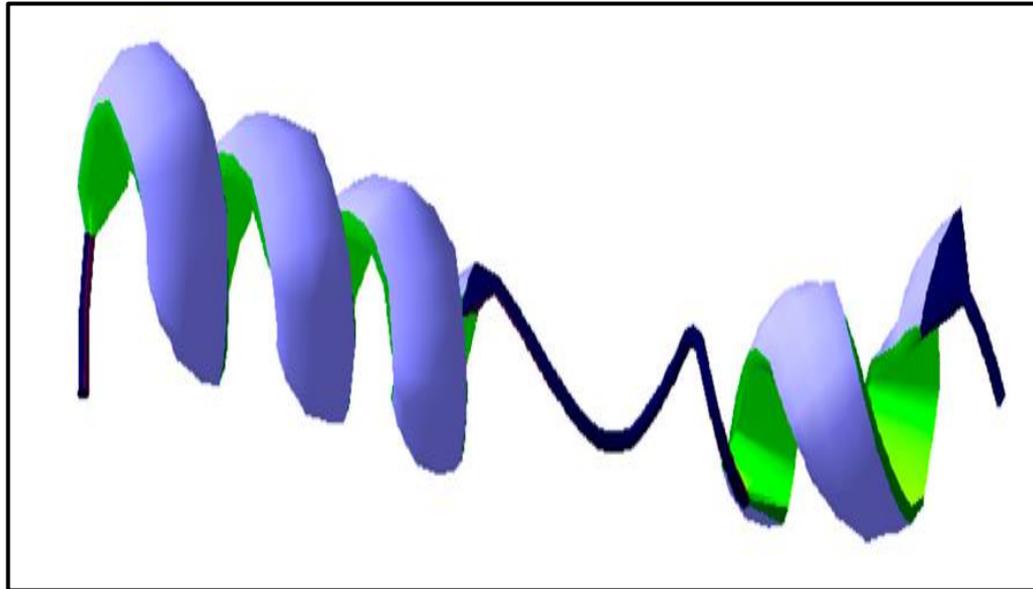


## B. Melittin Racun Lebah (*Apis mellifera*)

Lebah madu (*Apis mellifera*) memproduksi dan mengeluarkan racun yang memiliki struktur yang kompleks. Komposisi racun lebah sangat beragam. Sebagian besar adalah peptida seperti melittin, apamin, peptida MCDP, tertiapine, secapoin, adolapine, prokamine dan protein dengan sifat enzimatis seperti *fosfolipase A2*, *hyaluronidase*, *fosfomonoesterase*, *lisofosfolipase*,  *$\alpha$ -D-glukosidase* (Zhang, S., et al. 2018).

Komponen utama dari racun lebah yang disebut melittin. Komponen ini menyumbang sekitar 52% dari massa kering mengandung 26 polipeptida amino dan memiliki massa molekul 2.840 Da. Peptida ini disintesis dalam kelenjar racun lebah dalam bentuk prekursor tidak aktif yang dikenal sebagai '*prepromelittin*', yang terdiri dari 70 asam amino. Aktivasi *prepromelittin* adalah proses multi-langkah. Pertama, peptida sinyal asam amino 21 yang didominasi hidrofobik dibelah; kedua, amida terminal karboksil terbentuk dengan hilangnya glisin terminal yang diikuti dengan penghilangan fragmen asam amino 22 dengan prolin atau alanin pada posisi bernomor genap, oleh *exoprotease*. Bentuk aktif melittin memiliki sifat polar di mana 20 asam amino pertama (dari ujung N) bersifat hidrofobik sedangkan 6 asam amino berikutnya bersifat hidrofilik. Struktur melittin dapat dilihat pada Gambar 5 (Michal C, et al. 2020).





Gambar 5. Struktur melittin 3D (Michal C, et al. 2020).

Selain menjadi senyawa utama yang ada dalam racun lebah, melittin juga merupakan komponen bioaktif dari campuran ini. Melittin murni terdiri dari spektrum aktivitas biologis yang luas yang dapat digunakan dalam terapi medis modern, efek biologi dari melittin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Contoh berbagai efek biologis dari melittin (Michal C, et al. 2020).

---

#### Efek Biologis dari Melittin

---

1. Menghambat klonogenisitas dan pertumbuhan sel leukemia pada manusia dan tikus
  2. Mengaktifkan fosfolipase A2 sekretori
  3. Menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap strain *Staphylococcus aureus* (strain 80) yang resisten terhadap penisilin.
  4. Menghambat invasi dan migrasi sel kanker paru-paru non-sel kecil
    - Menghambat invasi karsinoma ginjal manusia
    - Menghambat pertumbuhan sel kanker prostat manusia
- 



- 
7. Menginduksi kematian sel apoptosis pada sel kanker ovarium
  8. Menghambat proliferasi dan induksi apoptosis pada sel glioma manusia ganas
  9. Menghambat proliferasi dan induksi apoptosis pada sel karsinoma hepatoseluler manusia
  10. Menghambat invasi dan migrasi sel kanker payudara
  11. Menghambat perkembangan kanker serviks manusia dan angiogenesis
  12. Menghambat proliferasi sel osteosarkoma
  13. Menginduksi apoptosis pada sel melanoma manusia
  14. Memberikan efek takikardik dengan mengaktifkan jalur COX
  15. Meningkatkan tekanan darah dan membalikkan hipotensi pada syok hemoragik.
- 

Racun lebah adalah campuran yang sangat kompleks dari setidaknya 18 komponen aktif, sekitar 50% dari berat keringnya adalah melittin (Vogel, 1981). Penelitian terbaru mengungkapkan efek potensial dari racun lebah dan substansinya seperti melittin yang dapat menyebabkan sitotoksik anti tumor (Orsolich, 2012), imunomodulator (Mohammadi, 2015), efek apoptosis pada sel tumor yang berbeda secara in vivo maupun in vitro (Premratanachai dan Chanchao, 2014; dalam Makkasau., et al. 2016).

Laporan terbaru menunjukkan beberapa efek melittin seperti anti-proliferasi dan mendefinisikan mekanismenya aksi dalam sel otot polos



di dalam darah aorta tikus yang dikultur, secara efektif menghambat *fetal* erum (FBS) yang diinduksi dan turunan trombosit proliferasi sel otot vaskular (VSMC) yang diinduksi faktor pertumbuhan berat badan

(BB) (Putra, 2006); efek anti-proliferatif dan pro-apoptosis terhadap kanker ovarium (Jo, 2012); efek anti kanker pada sel kanker prostat melalui aktivasi jalur *caspase* melalui inaktivasi *nuclear factor kappa beta* (NF-κB) (Park et al., 2011). Banyak penelitian yang berkaitan dengan berbagai mekanisme racun lebah sitotoksisitas pada sel kanker, hanya sedikit laporan yang tersedia mengenai efeknya pada sel normal (Gajski, 2012; dalam Makkasau., et al. 2016).

Melittin memiliki efek sitotoksik yang kuat dan menghambat pertumbuhan sel pada *cell line* baik untuk sel kanker (HeLa, WiDr) dan sel normal (Vero). *The American National Cancer Institut* mengemukakan bahwa mellitin memberikan efek sitotoksik yang signifikan sebagai produk antikanker yang menjanjikan untuk studi bio-panduan di masa depan jika memiliki nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$  (Suffnes dan Pezzuto, 1990; dalam Makkasau., et al. 2016).

Efek sitotoksisitas melittin sebelumnya telah dikaitkan dengan kematian sel nekrotik dan apoptosis. Apoptosis induksi melittin baru-baru ini telah dilaporkan pada hepar (Li, 2006), dan sel otot polos (Son, 2006). Induksi apoptosis ini tidak secara langsung dikaitkan dengan melittin karena banyaknya molekul lain yang ditemukan dalam racun lebah. Melittin ditemukan menginduksi nekrosis timosit tikus (Shaposhnikova, 1997). Melittin memiliki efek sitotoksik yang kuat dan menghambat garis sel HeLa

serta pada sel Vero normal (Makkasau., et al. 2016).



### C. Stress Oksidatif

Spesies oksigen reaktif/*reactive oxygen species* (ROS), yang secara konstan terbentuk dalam sel organisme aerobik, adalah bagian dari reaksi fisiologis, metabolisme, dan biokimia lainnya. Spesies oksigen reaktif endogen dan radikal bebas oksigen memiliki fungsi fisiologis yang penting, terutama berperan dalam pensinyalan sel dan homeostasis. Namun, karena sifat reaktifnya, mereka dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada membran sel lipid, protein dan DNA. Faktor eksogen seperti radiasi ultraviolet (UV), asap rokok, asbestos dan karsinogen juga dapat menghasilkan ROS dalam berbagai kondisi (Valavanidis A, et al. 2009).

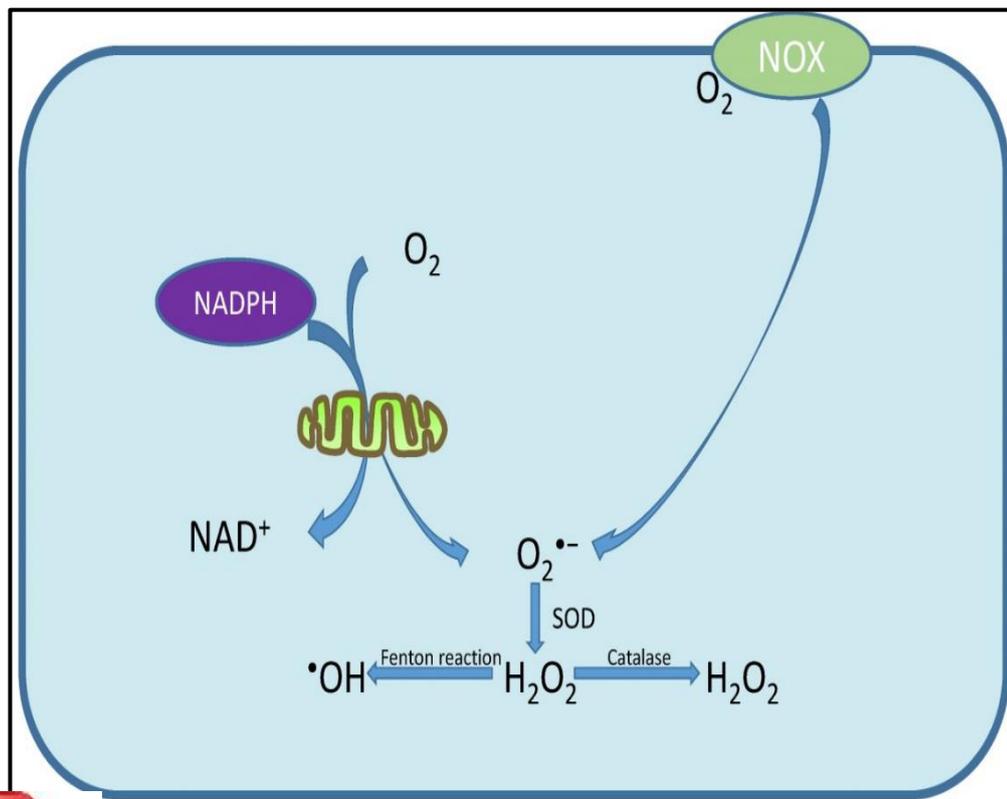
Pada dasarnya, stres oksidatif adalah ketidakseimbangan antara produksi ROS dan kemampuan antioksidan untuk menangkal ROS (Pruchniak MP, et al. 2015). Radikal bebas yang melibatkan oksigen dapat disebut sebagai ROS (Aiken CT, et al. 2011). Secara umum, ada dua jenis ROS, yaitu radikal bebas seperti anion superoksida ( $O_2^{\bullet-}$ ), radikal hidroksil ( $\bullet OH$ ) dan molekul non-radikal seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), oksigen tunggal ( $^1O_2$ ) (Sharma P, et al. 2012). Respirasi mitokondria adalah sumber utama ROS dan hampir 90% ROS diproduksi oleh mitokondria (Lushcak VI. 2014). Elektron ditransfer ke oksigen molekuler oleh mitokondria rantai pernapasan, menghasilkan  $H_2O$  atau  $O_2^{\bullet-}$ , dan SOD dapat mengkatalisis  $O_2^{\bullet-}$  menjadi  $H_2O_2$  yang selanjutnya diubah menjadi  $H_2O$  oleh katalase atau

sangat  $\bullet OH$  melalui reaksi Fenton (Kuznetsov AV, et al. 2011)  
r 6). Selain dari mitokondria, (*nicotinamide adenine dinucleotide*



*phosphate*) NADPH oxidase (NOX), yaitu terutama respons terhadap stres, adalah sumber lain dari ROS intraseluler (Bedard, K., et al. 2007) (Gambar 6). Sedangkan untuk eliminasi ROS, ada yang endogen dan eksogen kecil antioksidan molekuler, atau enzimatik dan antioksidan nonenzimatik (Reyter S, et al. 2010) (Tabel 3).

Metabolisme-metabolisme antioksidan ini mengatur konsentrasi seluler ROS untuk mencegah seluler kerusakan. Sebagai contoh,  $O_2^{\bullet-}$  diubah menjadi  $H_2O_2$  oleh SOD, dan kemudian,  $H_2O_2$  dipecah menjadi air dan oksigen oleh CAT (Vurusaner B, et al. 2012).



Gambar 6. Mekanisme Produksi ROS (Hao Liu, et al. 2017).



Tabel 3. Kategori Antioksidan (Hao Liu, et al. 2017).

Type	Name
<i>Endogeneous</i>	<i>GSH; alpha-lipoic acid; coenzyme Q; ferritin bilirubin; uric acid; metallothionein; melatonin and L-carnitine;</i>
<i>Exogenous</i>	<i>NAC; butylated hydroxytoluene; propyl gallate; tiron; pyruvate; butylated hydroxyanisole; selenium;</i>
<i>Enzymatic</i>	<i>SOD; CAT; GPX;APX</i>

Spesies oksigen reaktif dihasilkan selama proses metabolisme seluler normal dan setelah terpapar faktor lingkungan yang berbahaya, seperti radiasi pengion dan karsinogen kimiawi (Alan Mitteer, et al. 2015). Berbagai macam ROS dikenal dalam sistem biologis, yang paling relevan adalah radikal hidroksil, hidrogen peroksida, anion superoksida dan oksigen tunggal. Ketidakseimbangan antara produksi dan pembersihan ROS, yang dikenal sebagai stres oksidatif, akan menyebabkan kerusakan protein seluler, lipid, dan asam nukleat (Sanders, L & Greenamyre J. 2013). Di antara biomolekul seluler yang mungkin diserang dan dimodifikasi oleh ROS, upaya besar telah dikhususkan untuk DNA. Telah diakui bahwa oksidatif Kerusakan DNA dapat mengakibatkan efek sitotoksik dan terlibat dalam patogenesis berbagai penyakit termasuk penyakit neurodegeneratif, penyakit kardiovaskular, penyakit inflamasi kronis, dan kanker (Thanan R, et al 2015; He & Zuo. 2015; Pereire, C., et al. 2015).



Meskipun ROS memainkan peran penting dalam tumor, tingkat sidatif dapat dievaluasi lebih baik dengan menilai metabolit stabil

dari reaksi oksidatif karena ketidakstabilannya yang tinggi. ROS dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada untai ganda. DNA secara langsung, atau untuk membebaskan basa dalam kumpulan deoksinukleosida trifosfat (dNTP) seluler dan mitokondria (Ichikawa J. et al. 2008; Xiangcheng Q, et al. 2019). ROS utama termasuk radikal bebas hidroksil ( $\text{OH}^\bullet$ ), radikal anion superoksida ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), dan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) sementara superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GSH-PX), dan katalase (CAT) adalah enzim antioksidan utama (H. Zhu & Y.R. Li. 2012). Peroxisom adalah organel penting dalam oksidasi biologis dalam sel dan berpartisipasi dalam produksi dan pembersihan radikal bebas. Peroxisom diperkaya dengan enzim hidrogen peroksida, oksidase, dan peroksidase (P. Magliano, et al. 2011; W. Gehrman, et al. 2011; Zhiqi W, et al. 2016).

#### D. Sel WiDr

Sel line WiDr adalah sel kanker kolon manusia yang diisolasi dari kolon pasien wanita yang berusia 78 tahun. Sel WiDr adalah turunan sel kanker lain yaitu sel HT-29 (Chen, *et al.*, 1987). Sel WiDr memproduksi antigen karsinoembrionik dan membutuhkan waktu sekitar 15 jam untuk dapat menyelesaikan 1 daur sel. Salah satu karakteristik dari sel WiDr merupakan ekspresi siklooksigenase-2 (COX-2) yang tinggi sehingga dapat memacu proliferasi sel WiDr (Palozza, et al., 2005). Pada el WiDr, terjadi



53 pada posisi 273 sehingga terjadi perubahan residu arginin astidin (Noguchi, et al. 1979). Namun, p21 pada sel WiDr yang

masih normal memungkinkan terjadinya penghentian daur sel (Liu, et al., 2006).

WiDr adalah salah satu sel yang memiliki sensitivitas yang rendah terhadap perlakuan dengan 5-fluorouracil (5-FU). Transfeksi WiDr dengan p53 normal tidak menyebabkan peningkatan ekspresi enzim timidilat sintetase yang merupakan target penghambatan utama dari 5-FU (Sigmond, et al., 2006). P-glikoprotein (Pgp) pada sel WiDr tidak diekspresikan tinggi sehingga kemungkinan terdapat mekanisme lain yang memperantari resistensi WiDr terhadap 5-FU (Jansen, 1997).

#### **E. *Nuclear factor E2-related factor 2 (NRF2)***

Faktor transkripsi *nuclear factor E2-related factor 2* (NRF) mengontrol fungsi rantai pernapasan, jalur utama yang bertanggung jawab untuk memproduksi spesies oksigen reaktif (ROS). Spesies oksigen reaktif sangat berbahaya bagi mikromolekul seluler karena mereka menginduksi tumorigenesis melalui reaksi non-spesifik dengan asam nukleat, protein, dan lipid (Kim TH, et al. 2011). *Nuclear factor E2-related factor 2* dianggap sebagai mekanisme pertahanan utama dan pengatur kelangsungan hidup sel (Jaramillo M & Zhang D. 2013). Dalam kondisi sehat, NRF2 melindungi dari tumorigenesis dan perkembangan kanker dengan melemahkan senyawa genotoksik yang muncul baik secara intrinsik maupun ekstrinsik. Namun, aktivasi respons pertahanan NRF2 dapat meningkatkan

panjang hidup normal dan kanker sel dengan menciptakan



lingkungan yang optimal untuk pertumbuhan sel (Gonzalez-Donquiles C. 2017).

*Nuclear factor E2-related factor 2* (NRF2) adalah protein ritsleting leusin dasar yang mengatur ekspresi protein antioksidan *nuclear factor E2-related factor 2* terlibat dalam jaringan regulasi yang kompleks dan memainkan berbagai peran dalam regulasi metabolisme, peradangan, autophagy, proteostasis, fisiologi mitokondria, dan respons kekebalan tubuh (He F, et al. 2020).

*Nuclear factor E2-related factor 2* (NRF2) memainkan peran penting dalam melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Telah terbukti bahwa NRF-2 memainkan peran penting ketika sel bereaksi terhadap stres, dan biasanya diatur oleh *Kelch-like ECH-associated protein 1* (Keap1) yang dikenal sebagai sitoplasma yang kuat penekan NRF2 dengan membuat kompleks yang terdiri dari Keap1/senyawa NRF2 (Kobayashi M, et al. 2022). Dalam lingkungan normal, NRF2 di dalam sitoplasma tetap tidak aktif secara transkripsi melalui kombinasi dengan penekan Keap1; dan itu dengan cepat terdegradasi oleh proteasom, sehingga hanya kadar protein yang rendah yang dipertahankan. Tetapi ketika sel terpapar stres oksidatif atau senyawa kemopreventif, NRF2 bergerak ke nukleus untuk membentuk heterodimer dengan protein Maf kecil, di mana ia berikatan dengan ARE rangkaian DNA untuk mengaktifkan transkripsi genetik antioksidan dan



letoksifikasi fase II (Zhang DD. 2006). Hal ini membuktikan peran NRF2 terhadap kanker, neurodegeneratif penyakit, penyakit

kardiovaskular, radang, paru fibrosis, cedera paru akut, dan sejumlah manusia lainnya penyakit dan kondisi patologis, dengan menekankan peran biologis penting NRF2 (Kim HR, et al. 2008; Kim JH, et al. 2007; Ohta T, et al. 2008). Oleh karena itu, NRF2 telah dianggap sebagai faktor transkripsi "baik" untuk melindungi dari stres oksidatif (Yoon Jin L, et al. 2020).

Selain itu, NRF2 menginduksi ekspresi enzim bifasik dan mengurangi risiko karsinogenesis jaringan. Kadar NRF2 yang lebih tinggi berkorelasi positif dengan antioksidan enzim seperti *glutathione S-transferase A4* (GST-A4) dan *peroxiredoxin protein-1* (PRDX1), dan dengan Interleukin-17A (IL-17A) berkorelasi negatif (Sabzevary-Ghahfarokhi M, et al. 2018). Singkatnya, perkembangan KKR dapat dihambat dengan mengaktifkan NRF2 (Jiaxiang Li, et al. 2022).

## F. Katalase

Katalase adalah salah satu enzim antioksidan penting yang berperan penting dalam memecah hidrogen peroksida dan mempertahankan homeostasis redoks seluler. Katalase adalah salah satu antioksidan yang paling penting. Enzim ini terdapat di hampir semua organisme aerobik. Katalase memecah dua molekul hidrogen peroksida menjadi satu molekul oksigen dan dua molekul air dalam reaksi dua langkah (Ankita Nandi, et al. 2019).



Katalase telah dikarakterisasi dari banyak organisme eukariotik prokariotik. Berdasarkan perbedaan urutan dan strukturnya, ada

tiga jenis katalase yang berbeda. Kelompok satu yaitu enzim yang mengandung heme monofungsional yakni yang paling luas, enzim ini ada di semua organisme aerobik. Katalase-peroksidase bifungsional termasuk dalam kelas kedua, yang relatif lebih sedikit di alam. Enzim ini juga mengandung gugus heme, yang terkait erat dengan peroksidase tanaman dengan kemiripan struktur dan urutan. Kelas ketiga milik kelompok katalase yang mengandung Mn yang kekurangan kelompok *heme* (Ankita Nandi, 2019).

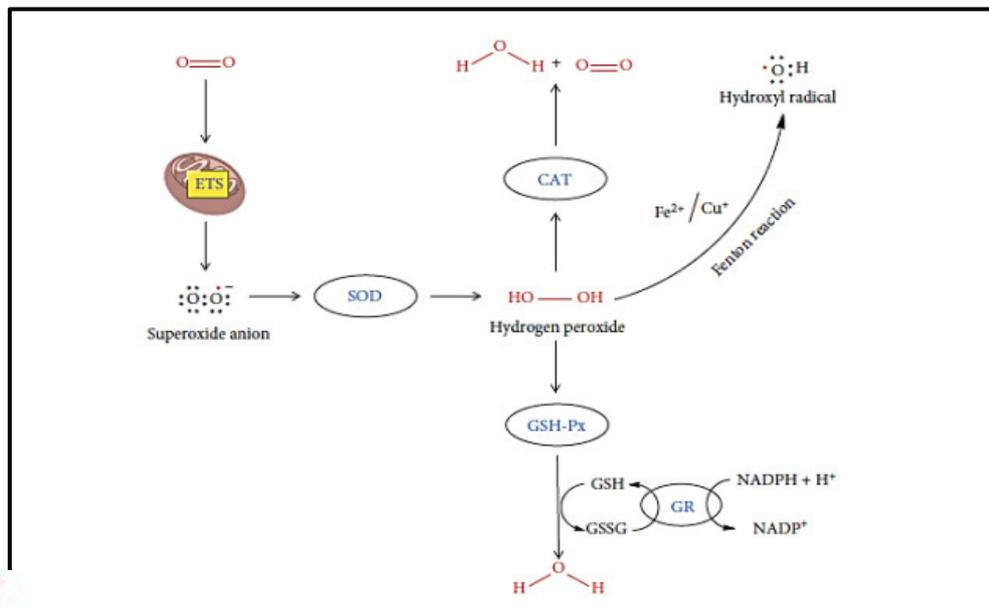
Spesies reaktif yang diproduksi dalam sel selama metabolisme seluler normal dapat bereaksi secara kimiawi dengan biomolekul seluler seperti asam nukleat, protein, dan lipid, sehingga menyebabkan modifikasi oksidatif yang mengarah pada perubahan komposisi dan potensi kerusakan pada aktivitas seluler. Katalase adalah salah satu enzim antioksidan penting yang mengurangi stres oksidatif secara luas dengan menghancurkan hidrogen peroksida seluler untuk menghasilkan air dan oksigen. Kekurangan atau kerusakan katalase dipostulatkan terkait dengan patogenesis banyak penyakit degeneratif yang terkait dengan usia seperti diabetes mellitus, hipertensi, anemia, vitiligo, penyakit Alzheimer, penyakit Parkinson, gangguan bipolar, kanker, dan skizofrenia (Ankita Nandi, et al. 2019).

Tubuh memiliki mekanisme pertahanan terhadap oksidatif stres di olekul enzimatik dan nonenzimatik adalah dua komponen utama. ertahanan antioksidan ini terdiri dari beberapa enzim, beberapa



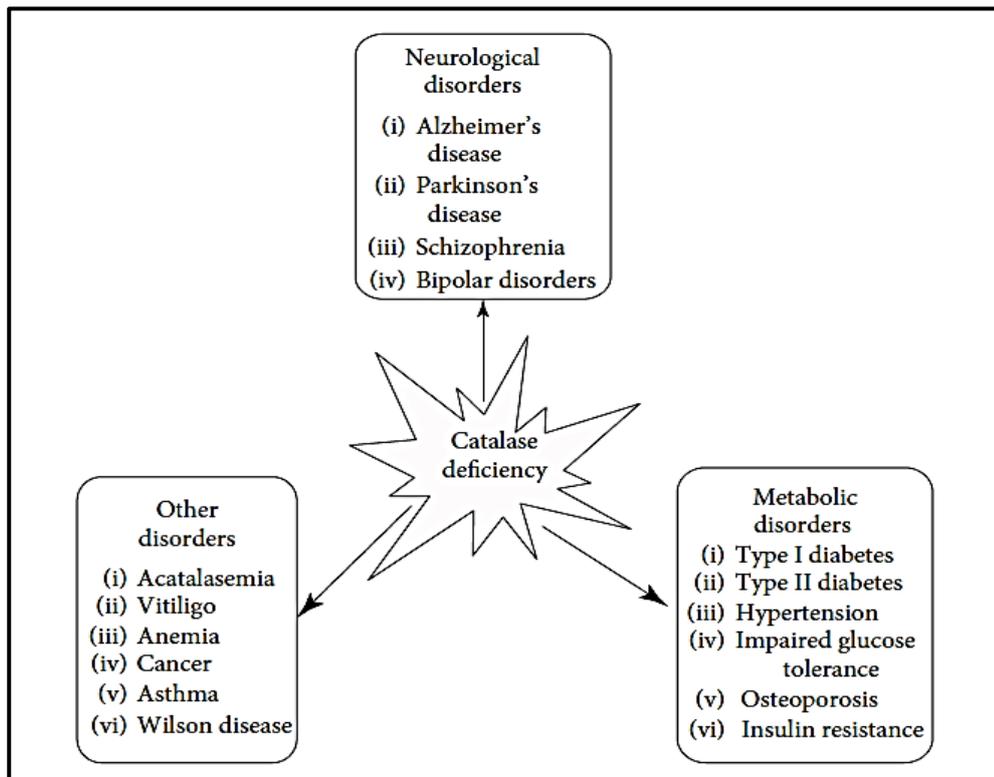
protein, dan beberapa rendah molekul dengan berat molekul rendah. Enzim antioksidan dapat secara katalitik menghilangkan spesies reaktif. Misalnya, superoksida dismutase mendismutasi superoksida menjadi hidrogen peroksida yang pada gilirannya terdegradasi oleh katalase atau oleh glutathione peroksidase. Hubungan antara antioksidan yang berbeda antioksidan yang berbeda digambarkan secara grafis pada Gambar 7. (Ankita Nandi, et al. 2019).

Kekurangan atau kerusakan katalase dikaitkan dengan banyak penyakit seperti diabetes mellitus, vitiligo, kardiovaskular penyakit, penyakit Wilson, hipertensi, anemia, beberapa gangguan dermatologis, penyakit Alzheimer, gangguan bipolar, dan skizofrenia (L. K. Habib, M. T. C. Lee, and J. Yang. 2010) (Gambar 8).



Gambar 7. Hubungan antara katalase dan enzim antioksidan lainnya (Ankita Nandi, et al. 2019).





Gambar 8. Daftar beberapa penyakit yang terkait dengan defisiensi katalase (Ankita Nandi, et al. 2019)

### G. Hubungan Melittin Racun Lebah dengan Stress Oksidatif pada Kanker Kolorektal

Telah diketahui secara luas bahwa kerusakan DNA yang diinduksi oleh ROS dan mutasi genetik merupakan penyebab utama kanker termasuk KKR (Kirkali G, et al. 2011). Kerusakan DNA endogen yang paling banyak dipelajari oleh ROS adalah pembentukan *8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxyguanosine* (8-oxodG). Sebagai biomarker stres oksidatif, kadar 8-oxodG lebih tinggi pada tumor kolorektal dibandingkan dengan mukosa normal (Matosevic P, et al. 2015).

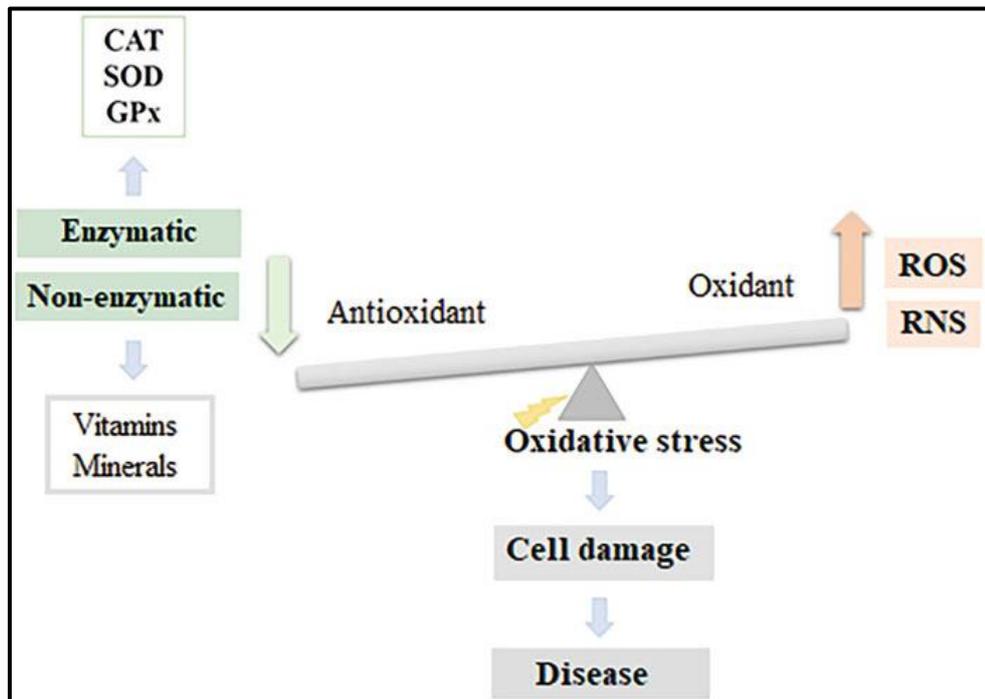
mulasi bukti telah menunjukkan bahwa ROS tingkat moderat angsi sebagai pembawa pesan yang mendorong proliferasi dan



invasi sel kanker, sedangkan, protein redoks dapat mengais ROS basal dan berfungsi sebagai "penekan tumor", atau mencegah ROS yang berlebihan untuk bertindak sebagai "promotor tumor" (Chen Y, et al. 2016). Modifikasi redoks protein yang terlibat dalam onkogenesis KKR adalah melalui jalur pensinyalan dan modulasi faktor transkripsi (Yang HY, et al. 2013). Proses KKR, sel usus besar atau rektum normal, polip, adenokarsinoma, dan akhirnya KKR metastasis, secara tepat memanfaatkan oksidan dan antioksidan dengan bantuan penanda sensitif redoks. sangat diperlukan. Dengan demikian, lebih banyak penanda sensitif redoks yang dibutuhkan (Hao Liu, et al. 2017).

Sistem pertahanan antioksidan sel dapat diklasifikasikan menjadi enzimatik dan nonenzimatik, dan memiliki fungsi untuk melindungi komponen seluler dan menjaga kondisi redoks sel (Dalvi et al. 2013). Efektivitas pertahanan sistem ini tergantung pada konsumsi mikronutrien yang memadai seperti vitamin dan mineral (sistem pertahanan antioksidan nonenzimatik), dan pada produksi dan kerja enzim yang memetabolisme radikal bebas (sistem enzimatik) seperti katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), dan glutathion peroksidase (GPx) yang juga digunakan sebagai penanda stres oksidatif (Vasconcelos et al. 2014).





Gambar 9. Representasi skematis dari proses stres oksidatif (M. d. Carmo de Carvalho e Martins et al. 2022).

Ketidakseimbangan redoks diakibatkan oleh rusaknya keseimbangan antara oksidan dan antioksidan. Oksidan yang dominan adalah ROS yang terlibat dalam beberapa sel proses dengan mengangkut sinyal secara fisiologis sebagai pembawa pesan kedua atau mengoksidasi secara patologis DNA, lipid, dan protein. Secara umum, konsentrasi ROS yang rendah sangat diperlukan untuk sel kelangsungan hidup dan proliferasi. Namun, konsentrasi ROS yang tinggi bersifat sitotoksik. Selain itu, ROS saat ini diketahui menginduksi modifikasi oksidatif makromolekul terutama protein, modifikasi redoks

lain terlibat dalam berbagai proses biologis yang berkaitan dengan penyakit termasuk KKR (Hao Liu, et al. 2017).

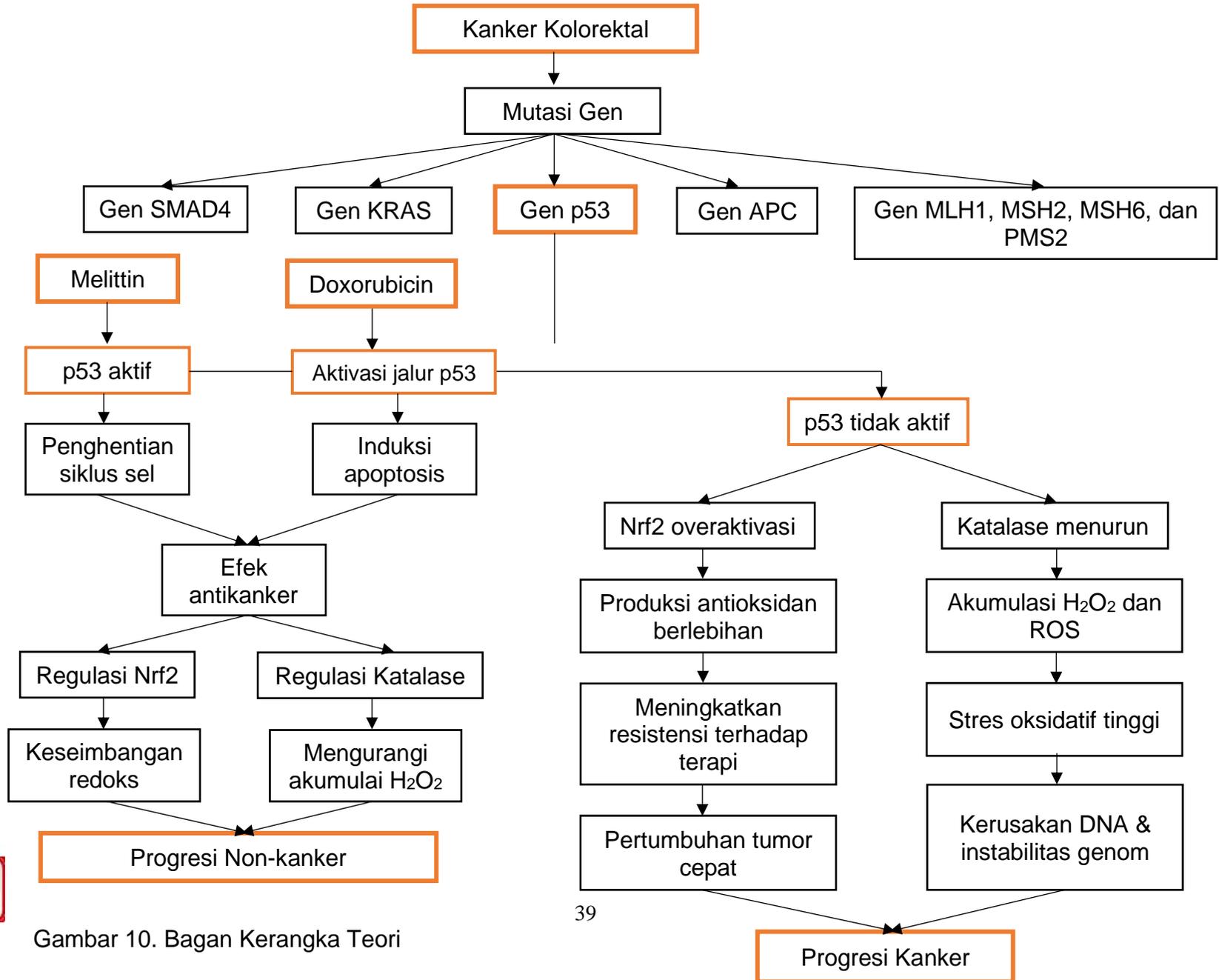


Injeksi racun lebah ke titik-titik tertentu pada tubuh, sebuah metode yang telah banyak digunakan sebagai terapi komplementer dan terapi alternatif selama 3000 tahun, disebut sebagai terapi racun lebah (Zhang, S., et al. 2018). Penelitian ekstensif yang dilakukan dalam beberapa tahun terakhir telah menunjukkan bahwa hasil yang memuaskan dapat dicapai ketika menggunakan racun lebah untuk berbagai jenis penyakit seperti radang sendi (Li, J., et al. 2010), nyeri kronis (El Gendy, A., et al. 2017), kanker (Rady I., et al. 2017), dan dermatitis atopik (An, HJ., et al. 2018).

Pada tahun 1985, Hait *et al.* menunjukkan bahwa melittin mampu untuk menghambat klonogenisitas dan pertumbuhan sel leukemia pada manusia dan tikus dan potensinya berasal dari aksi protein pengikat kalsium-kalmodulin yang ada di mana-mana (Hait, W.N., et al. 1985). Sejak saat itu, mekanisme dan fungsi apoptosis yang diinduksi melittin telah dipelajari secara ekstensif di banyak garis sel kanker (Rady, I. 2017). Juga telah diamati bahwa melittin, dengan cara yang sinergis, meningkatkan toksisitas bleomisin terhadap granulosit dan makrofag manusia serta darah merah sel punca darah (Abd-Elhakim, et al. 2014).



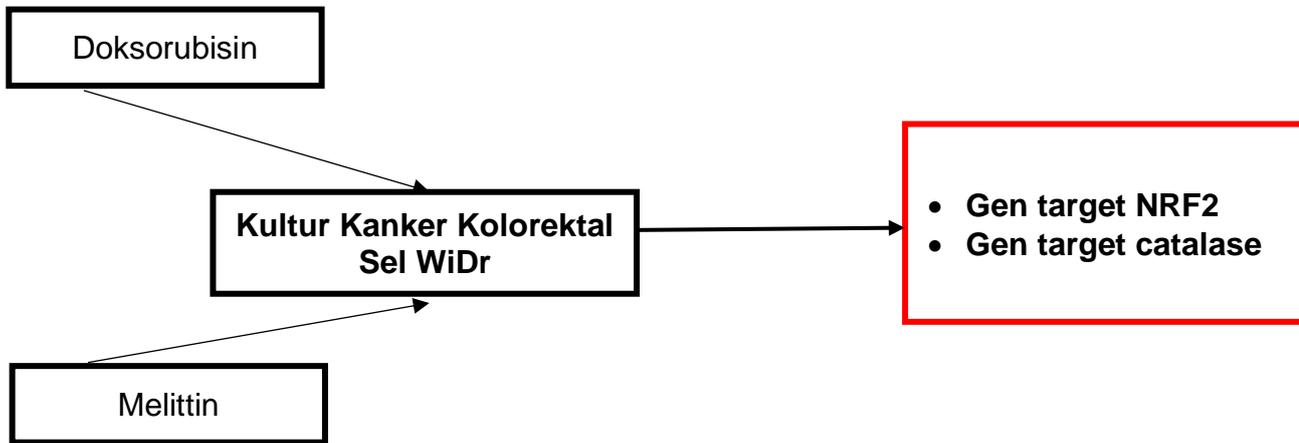
## H. Kerangka Teori



Gambar 10. Bagan Kerangka Teori



## I. Kerangka Konsep



### Keterangan :

-  : Variabel Independen
-  : Variabel Dependen
-  : Hubungan antar variabel

Gambar 11. Bagan Kerangka Konsep



## J. Hipotesis

1. Melittin yang diisolasi dari racun lebah (*Apis mellifera*) menunjukkan kadar gen target NRF-2 lebih tinggi dibandingkan dengan doksorubisin terhadap sel kanker kolorektal (sel WiDr).
2. Mellitin yang diisolasi dari racun lebah (*Apis mellifera*) menunjukkan kadar gen target katalase lebih tinggi dibandingkan dengan doksorubisin terhadap sel kanker kolorektal (sel WiDr).

## K. Definisi Operasional

### 1. Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal (KKR) adalah kanker ganas yang menyerang usus besar dan/atau rektum, dalam penelitian ini kanker dilakukan kultur yaitu sel WiDr, yang dikultur dan diisolasi di Laboratorium Hasanuddin *University Medical Research Center*.

### 2. Melittin Racun Lebah

Melittin diisolasi dari racun lebah (*Apis mellifera*) menjadi senyawa utama yang ada dalam racun lebah, melittin juga merupakan komponen bioaktif. Melittin murni terdiri dari spektrum aktivitas biologis yang luas yang dapat digunakan dalam terapi medis modern.

### 3. Stress Oksidatif

ROS endogen dan radikal bebas oksigen memiliki fungsi fisiologis yang penting, terutama berperan dalam pensinyalan sel dan ostasis. Telah diakui bahwa oksidatif kerusakan DNA dapat mengakibatkan efek sitotoksik dan terlibat dalam patogenesis berbagai



penyakit termasuk penyakit neurodegeneratif, penyakit kardiovaskular, penyakit inflamasi kronis, dan kanker.

#### 4. NRF2

NRF2 merupakan mekanisme pertahanan utama dan pengatur kelangsungan hidup sel, melindungi dari tumorigenesis dan perkembangan kanker dengan melemahkan senyawa genotoksik, NRF-2 dalam penelitian dilakukan deteksi ekspresi gen pada sel WiDr menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR).

#### 5. Katalase

Katalase (Cat) adalah salah satu enzim antioksidan penting berperan dalam memecah hidrogen peroksida dan mempertahankan homeostasis redoks seluler, Cat dalam penelitian dilakukan deteksi ekspresi gen pada sel WiDr menggunakan metode PCR.

