

**PENGARUH PEMBERIAN
EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata L.*)
TERHADAP APOPTOSIS DAN PROLIFERASI
KULTUR SEL RETINOBLASTOMA**

TESIS

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Dokter Spesialis Mata



Oleh :

MARSHA DECHA STRA CHAIRISSY

NIM : 148070600111007

**PESERTA PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS I
ILMU KESEHATAN MATA**

**BAGIAN ILMU KESEHATAN MATA
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**RUMAH SAKIT UMUM Dr. SAIFUL ANWAR
MALANG**

2018



HALAMAN PENGESAHAN

HASIL PENELITIAN ANALITIK

**PENGARUH PEMBERIAN
EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata L.*)
TERHADAP APOPTOSIS DAN PROLIFERASI
KULTUR SEL RETINOBLASTOMA**

Oleh :

Marsha Dechastra C.

NIM : 148070600111007

Dibacakan pada tanggal :

29 November 2018

dr.Lely Retno Wulandari Sp. M (K)

dr.Hidayat Sujuti, Sp.M,Ph.D

NIP:19741213 200812 2 002

NIP: 446/DF/367 1/3573 306/2009

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Seskoati Prajitnaningsih, Sp.M (K)

Ketua Program Studi



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Marsha Dechastra Chairissy

NIM : 148070600111007

Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

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

Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Desember 2018

Yang membuat pernyataan,

Marsha Dechastra Chairissy
NIM 148070600111007

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan kemudahan, rahmat, petunjuk dan hidayahnya sehingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul "**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata L.*) TERHADAP APOPTOSIS DAN PROLIFERASI KULTUR SEL RETINOBLASTOMA**".

Sehubungan dengan itu penulis ingin menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Prof. DR. Nuhfil Hanani A.R., M.S.** selaku Rektor Universitas Brawijaya
2. **DR. dr. Sri Andarini , M.Kes** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
3. **dr. Restu Kurnia, M.Kes** selaku Direktur RSUD dr. Saiful Anwar Malang
4. **dr. Safaruddin Refa Sp.M-KVR** selaku Kepala SMF Ilmu Kesehatan Mata RSUD dr. Saiful Anwar Malang
5. **DR.dr. Seskoati Prayitnaningsih, Sp.M (K)** selaku Ketua Program Studi PPDS-1 Ilmu Kesehatan Mata Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
6. **dr. Lely Retno Wulandari, Sp.M (K)** selaku dosen pembimbing 1 seklaigus orang tua asuh saya atas segala semangat, masukan, bimbingan, dan bantuan yang diberikan selama penulisan tugas akhir ini dan selama saya menjalani pendidikan di IK Mata.
7. **dr. Hidayat Sujuti, Sp.M Ph.D** selaku dosen pembimbing 2 atas segala masukan, bimbingan, dan bantuan yang diberikan selama penulisan tugas akhir ini.

8. **DR. dr. Debby Shintiya Dewi, Sp.M (K)** selaku orang tua asuh saya atas segala semangat, bimbingan, dan bantuan yang diberikan selama saya menjalani pendidikan di IK Mata.
9. **Seluruh guru, supervisor**, di SMF IK Mata RSSA-FKUB yang selama ini telah membimbing, mengajar, berbagi ilmu, dan memberikan semangat serta nasehat yang sangat berarti selama proses pendidikan di IK Mata
10. **Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang** beserta jajaran stafnya atas segala bantuannya selama berlangsungnya pengerjaan tugas akhir ini.
11. Seluruh Keluarga Besar, khususnya **kedua orang tua dan mertua, Istri dan anak-anakku tersayang**, serta **adik-adikku** atas semua pengorbanan, dukungan, kasih sayang, semangat, dan do'a yang tiada henti.
12. **Teman-teman satu angkatan Juli 2014** (Mbak Asa, Mbak Ayu, Mbak Oli, Tata, Eci) atas kebersamaan, pengertian dan bantuan kalian selama ini.
13. **Teman-teman PPDS, Para Senior PPDS dan Adik-adik tingkat PPDS** atas segala bantuan dan dukungannya selama ini.
14. Dan yang terakhir untuk **semua pihak yang telah membantu** dalam penyelesaian Tugas Akhir ini baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu. Semoga Allah memberi balasan kepada kalian dengan kebaikan yang banyak.

Penulis menyadari bahwa tulisan ini masih banyak kekurangan, kesalahan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun dalam menyempurnakan tulisan ini, sehingga dapat semakin banyak mendatangkan manfaat. Amien.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, Desember 2018

Marsha Dechastra Chairissy

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Klinis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Retinoblastoma.....	5
2.1.1 Definisi	5
2.1.2 Epidemiologi	6
2.1.3 Patogenesis	6
2.1.4 Faktor Resiko	9
2.1.5 Klasifikasi Retinoblastoma	9
2.1.6 Diagnosis	12
2.1.6.1 Anamnesa	13
2.1.6.2 Manifestasi klinis	13
2.1.6.3 Pemeriksaan penunjang	16
2.1.7 Diagnosis banding.....	19
2.1.8 Penatalaksanaan	29
2.1.8.1 Terapi retinoblastoma intraokuler	20
2.1.8.2 Terapi retinoblastoma ekstraokuler	25
2.1.8.3 Terapi paliatif	25
2.1.9 Prognosis	26
2.2 Regulasi proliferasi dan apoptosis sel	26
2.2.1 Kerusakan DNA	26
2.2.2 Jalur pRB	27
2.2.3 Jalur p53	28
2.2.4 Interaksi pRB dan p53	28
2.3 Ciplukan (<i>Physalis angulata L.</i>).....	29
2.3.1 Deskripsi.....	29
2.3.2 Morfologi	30
2.3.3 Taksonomi	31
2.3.4 Kandungan kimia.....	31
2.3.5 Potensi <i>Physalis angulata L</i> sebagai Antikanker	33
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	35
3.2 Kerangka Teori	36
3.3 Hipotesis Penelitian	37
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN	





4.1	Rancangan Penelitian	38
4.2	Tempat dan Waktu Penelitian	38
4.3	Sampel Penelitian	38
	4.3.1 Kriteria inklusi sampel penelitian	38
	4.3.2 Kriteria eksklusi sampel penelitian.....	39
4.4	Penentuan besar sampel penelitian	39
4.5	Variabel Penelitian	39
	4.5.1 Variabel bebas	39
	4.5.2 Variabel dependen.....	39
4.6	Penentuan Besar Dosis	39
4.7	Definisi Operasional	40
4.8	Alat Penelitian	40
	4.8.1 Kultur sel retinoblastoma	40
	4.8.2 Pembuatan ekstrak ciplukan.....	40
	4.8.3 Jumlah Proliferasi Sel menggunakan <i>MTT Cell Proliferation Assay</i>	41
	4.8.4 Jumlah Apoptosis menggunakan <i>flowcytometry Annexin V Apoptosis Detection Kit</i>	41
4.9	Bahan penelitian	41
	4.9.1 Kultur sel retinoblastoma.....	41
	4.9.2 Ekstrak daun ciplukan.....	42
	4.9.3 Pemeriksaan proliferasi menggunakan <i>MTT Cell Proliferation Assay</i>	42
	4.9.4 Pemeriksaan apoptosis menggunakan <i>flowcytometry Annexin V Apoptosis Detection Kit</i>	42
4.10	Prosedur penelitian	42
	4.10.1 Kultur sel retinoblastoma	42
	4.10.2 Pembuatan sediaan ekstrak daun ciplukan.....	43
	4.10.3 Pembuatan dosis ekstrak daun ciplukan.....	44
	4.10.4 Perlakuan kultur sel retinoblastoma	45
	4.10.5 Prosedur Pemeriksaan proliferasi menggunakan <i>MTT Cell Proliferasi Assay</i>	45
	4.10.6 Prosedur Pemeriksaan apoptosis menggunakan <i>flowcytometry Annexin V Biotin Kit Apoptosis Detection ...</i>	46
4.11	Rancangan Analisa Data	46
4.12	Alur Kerja Penelitian.....	47
4.13	Organisasi Penelitian	47
4.14	Jadwal Penelitian	48
BAB 5 HASIL PENELITIAN		
5.1	Gambaran Umum Hasil Penelitian	49
5.2	Data Hasil Penelitian	49
5.3	Analisa Statistik	50
	5.3.1 Uji Normalitas	50
	5.3.2 Uji Homogenitas	51
	5.3.3 Uji One Way Anova.....	51
	5.3.4 Uji Tukey	51
BAB 6 PEMBAHASAN		
6.1	Pengaruh Ekstrak Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata sp.</i>) terhadap Apoptosis Sel Kultur retinoblastoma.....	55
6.2	Pengaruh Ekstrak Daun Ciplukan (<i>Physalis angulata sp.</i>) terhadap Proliferasi Sel Kultur retinoblastoma	57
6.3	Mekanisme anti-kanker oleh Ciplukan (<i>Physalis angulata sp.</i>)	59
6.4	Keterbatasan Penelitian	62

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan 64

7.2 Saran 64

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Reese-Ellsworth 10

Tabel 2.2 Klasifikasi ABC pada Retinoblastoma..... 11

Tabel 2.3 Sistem Staging TNM untuk Retinoblastoma 12

Tabel 5.1 Rerata hasil pengamatan apoptosis dan proliferasi kultur sel
retinoblastoma pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 50

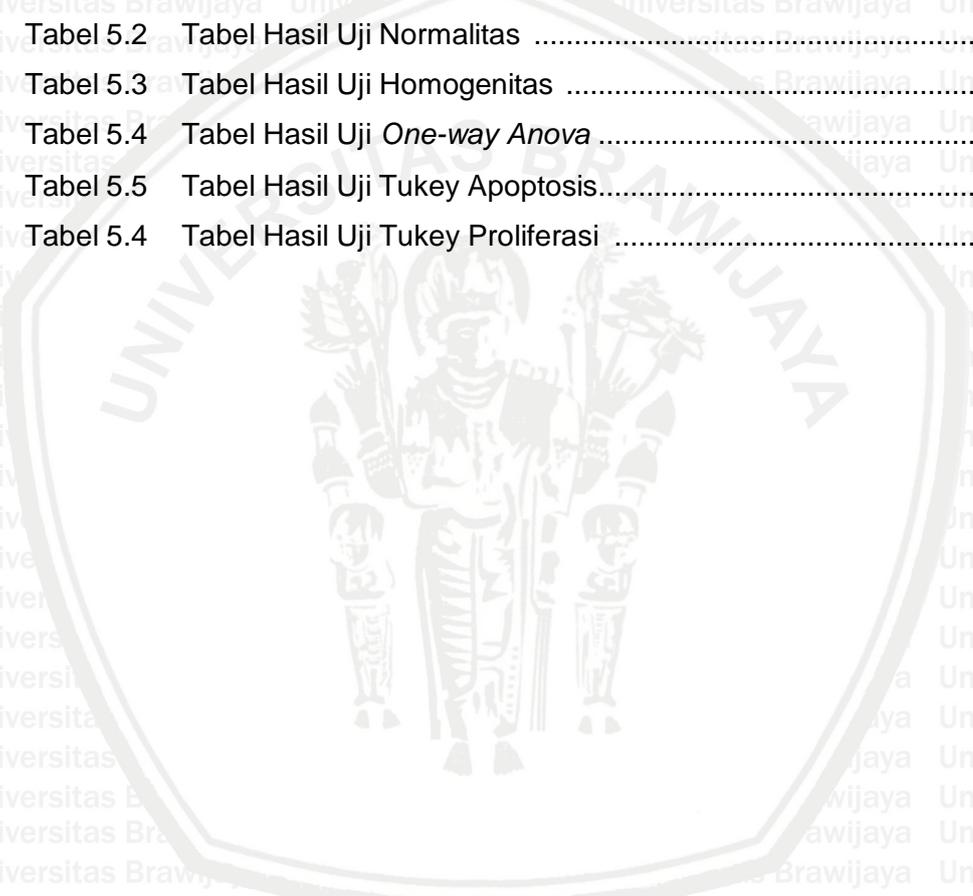
Tabel 5.2 Tabel Hasil Uji Normalitas 50

Tabel 5.3 Tabel Hasil Uji Homogenitas 51

Tabel 5.4 Tabel Hasil Uji *One-way Anova* 51

Tabel 5.5 Tabel Hasil Uji Tukey Apoptosis..... 52

Tabel 5.4 Tabel Hasil Uji Tukey Proliferasi 52



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Ilustrasi Perbandingan Mata Normal dengan Retinoblastoma 5

Gambar 2.2 Mekanisme inaktivasi RB1 dalam proliferasi sel normal (A) dan tumorigenesis (B)..... 7

Gambar 2.3 Interaksi p53 dan RB1 dalam regulasi apoptosis sel 8

Gambar 2.4 Klasifikasi Retinoblastoma berdasarkan *International Intraocular Retinoblastoma Classification (IIRC)* 11

Gambar 2.5 Gambaran leukokoria atau *white cat appearance* pada mata kiri 13

Gambar 2.6 Gambaran USG Retinoblastoma 15

Gambar 2.7 Gambaran CT scan retinoblastoma 16

Gambar 2.8 Gambaran MRI pada Pasien Retinoblastoma 16

Gambar 2.9 Gambaran *Flexner-Wintersteiner Rosettes* dengan Lumen Jernih di Sentral..... 18

Gambar 2.10 Gambaran *Homer-Wright Rosettes* yang tidak memiliki lumen dengan pusat tertutup filamen neural 18

Gambar 2.11 Gambaran *Florettes* pada retinoblastoma dengan seluruh sel fotoreseptor tampak berdeferensiasi 18

Gambar 2.12 Respon seluler terhadap kerusakan DNA 27

Gambar 2.13 Interaksi p53 dan RB1 dalam regulasi proliferasi dan apoptosis . 29

Gambar 2.14 Morfologi Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata L*) 31

Gambar 2.15 Mekanisme apoptosis sel kanker paru (NCI-H23) oleh ekstrak kloroform *Physalis angulata L*)..... 34

Gambar 5.1 Pengamatan kultur sel 49

Gambar 5.2 Grafik rata-rata Apoptosis 52

Gambar 5.3 Grafik rata-rata Proliferasi 53



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Retinoblastoma merupakan keganasan intraokuler primer yang paling sering terjadi pada anak. Penyakit ini dapat memberikan dampak gangguan pada kesehatan dan penglihatan anak. Insiden retinoblastoma secara umum berkisar antara 1:14.000 sampai 1:34.000 kelahiran hidup.¹ Di Amerika Serikat, 250-350 anak terdiagnosa retinoblastoma setiap tahunnya. Jumlah tersebut mewakili sekitar 11% dari kanker secara keseluruhan selama periode pertama kehidupan, dan mewakili sekitar 4% kanker selama 15 tahun pertama kehidupan. Puncaknya terutama selama beberapa bulan pertama kehidupan, namun setelah usia 6 tahun insiden tersebut menjadi sangat amat rendah. Angka harapan hidup di Amerika Serikat adalah sangat tinggi mendekati 100%.² Namun, prognosis di negara lain tidak sebagus Amerika Serikat, hal ini berhubungan dengan kurangnya deteksi dan buruknya akses ke pelayanan kesehatan. Angka harapan hidup di Cina sebesar 81%, di India 48%, dan di Afrika sebesar 20-46%. Di seluruh dunia, diperkirakan bahwa 3000-4000 kematian terjadi setiap tahunnya disebabkan oleh retinoblastoma.³

Patogenesis retinoblastoma berawal dari gangguan regulasi siklus sel sehingga menyebabkan pertumbuhan sel retina yang abnormal. Disebutkan pada retinoblastoma terjadi mutasi atau inaktivasi protein tumor supresi diantaranya adalah protein retinoblastoma (pRB) dan faktor transkripsi p53.⁴ pRB dan p53 merupakan dua jalur utama supresi tumor yang mengontrol respon seluler terhadap stimulus onkogenik seperti kesalahan pembelahan sel, kerusakan DNA dan sinyal mitogenik yang tidak sesuai. Masing-masing jalur tersebut memiliki regulator dan efektor tertentu yang keduanya bertujuan untuk menghentikan siklus sel atau bahkan menginduksi apoptosis.⁵ Inaktivasi pRB dapat menyebabkan sel masuk ke dalam fase proliferasi yang selanjutnya berakibat replikasi DNA yang tidak terkontrol dan hasil replikasi yang tidak sempurna.⁶ Gangguan jalur pRB saja tidak cukup untuk menginduksi terbentuknya tumor. Disregulasi pada jalur p53 juga akan menginduksi anti-apoptosis dan pertumbuhan sel yang berlebihan.⁷

Pada umumnya, retinoblastoma terdeteksi pertama kali ketika tumor putih tampak melalui pupil (leukokoria) atau gangguan penglihatan. Gambaran

klinis lain yang sering muncul adalah strabismus dan inflamasi okular. Sedangkan gambaran klinis lain yang mungkin tampak antara lain heterochromia iris, hifema, perdarahan vitreous, selulitis orbita, glaukoma, proptosis dan hipopion.⁶ Diagnosis awal dan tatalaksana yang tepat dapat menyembuhkan kanker dan menyelamatkan penglihatan. Akan tetapi, diagnosis yang terlambat dapat menyebabkan invasi ke dalam saraf optik dan otak yang tidak dapat disembuhkan atau metastase ke anggota tubuh lain sehingga memerlukan intervensi ekstensif. Kegagalan diagnosis pada stadium awal akan menyebabkan kebutaan, gangguan kosmetik yang permanen dan pada kasus yang berat akan menyebabkan kematian, sehingga harus tanggap terhadap gejala dini retinoblastoma. Diagnosis dini dan pengobatan yang adekuat pada tumor yang masih terbatas intraokular dapat menghasilkan *survival rate* 90%-95%. Tanpa pengobatan, tumor ini akan berekstensi ke ekstraokular dan mempunyai prognosis yang buruk.⁷

Tatalaksana retinoblastoma bervariasi tergantung pada kondisi tumor. Di beberapa negara maju, retinoblastoma unilateral memiliki angka kesembuhan yang tinggi dengan enukleasi, sedangkan retinoblastoma bilateral membutuhkan terapi multimodalitas yang terdiri dari terapi lokal, kemoterapi dan radioterapi.⁸ Salah satu kekurangan terapi retinoblastoma yang ada saat ini adalah memiliki rentang index terapi yang sempit sehingga memungkinkan timbulnya toksisitas pada jaringan normal. Selain itu tingkat rekurensi yang cukup tinggi menyebabkan besarnya angka kegagalan terapi. Oleh karena itu, akhir-akhir ini peneliti mencoba mengembangkan agen anti-tumor yang bekerja dengan menargetkan mekanisme yang dapat menekan perkembangan tumor, salah satunya adalah pRB. Dua strategi utama yang telah dikembangkan dengan target RB1 sebagai terapi kanker antara lain eksploitasi mutasi RB1 dan reaktivasi fungsi penekan tumor dari RB1.⁹ Beberapa strategi lain yang sedang dikembangkan antara lain terapi viral, terapi gen, terapi sitokin, penggunaan vitamin D analog dan lain-lain.¹⁰

Salah satu tanaman yang disebutkan memiliki potensi anti-kanker secara *in vitro* maupun *in vivo* adalah ciplukan (*Physalis angulata L.*).¹¹ Berdasarkan PERMENKES no.6 tahun 2016 ciplukan ditetapkan sebagai tanaman herbal asli Indonesia yang berpotensi sebagai terapi paliatif dan suportif pada beberapa penyakit kanker seperti Adenokarsinoma Paru, Ca mammae, Leukemia, Ca hepar, Ca renal, Ca ovarium.¹² Salah satu zat aktif antikanker yang berhasil diisolasi dari

ekstrak metanol daun ciplukan adalah *physalin* yang merupakan turunan glikosida flavonoid, selain itu didapatkan kandungan lain yaitu *luteolin*, *carotenoid*, dan *withanolides*. Selain efek antikanker, ekstrak daun ciplukan juga disebutkan memiliki potensi sebagai antiparasitik, antiinflamasi, antimikroba, antinyeri, dan immunosupresif.¹³

Penelitian yang dilakukan oleh Darma *et al.* tahun 2010 melaporkan bahwa ciplukan memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker rahim melalui modulasi ekspresi dari p53 sehingga menyebabkan terhentinya proliferasi sel.¹⁴

Penelitian yang dilakukan Fitria *et al.* 2011 menyebutkan bahwa ekstrak etanol herba ciplukan memiliki efek sitotoksik dan mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MCF-7.¹⁵ Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Handayani pada tahun 2012 dimana ekstrak etanol *Physalis angulata* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara dengan menurunkan ekspresi protein C-Myc, meningkatkan ekspresi protein p53 dan Apaf-1, menurunkan jumlah mitosis dan meningkatkan jumlah apoptosis.¹⁶ Penelitian lain yang dilakukan oleh Hseu *et al* (2011) juga melaporkan bahwa ekstrak etil asetat dari *P.angulata* dapat menghambat tahapan penting dalam metastase termasuk migrasi dan invasi *human oral squamous carcinoma cells*.¹⁷ Mekanisme ini diduga karena ekstrak daun ciplukan dapat menginduksi berhentinya siklus sel dan menginduksi apoptosis sel melalui aktivasi protein P53.¹⁸

Meskipun banyak penelitian telah membuktikan potensi antikanker dari ciplukan, belum ada penelitian yang membuktikan manfaatnya pada sel kanker retinoblastoma. Selain itu belum banyak teori yang menjelaskan bagaimana mekanisme kerja ekstrak ciplukan dalam perannya sebagai antikanker. Oleh karena itu penelitian ini didesain untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak daun ciplukan terhadap apoptosis dan proliferasi pada kultur sel retinoblastoma.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dapat meningkatkan apoptosis sel pada kultur sel retinoblastoma?
2. Apakah pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dapat menurunkan proliferasi sel pada kultur sel retinoblastoma?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap apoptosis dan proliferasi sel pada kultur sel retinoblastoma.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dapat meningkatkan apoptosis sel pada kultur sel retinoblastoma.
2. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dapat menurunkan proliferasi sel pada kultur sel retinoblastoma.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat akademis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan memperluas teori mengenai bahan-bahan alami di lingkungan sekitar yang dapat dimanfaatkan dalam dunia kedokteran.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi sumbangan terhadap ilmu pengetahuan mengenai potensi ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai agen anti kanker sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian selanjutnya
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai efek ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai terapi alternatif pada retinoblastoma

1.4.2 Manfaat Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan secara ilmiah mengenai efek ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai terapi alternatif pada retinoblastoma

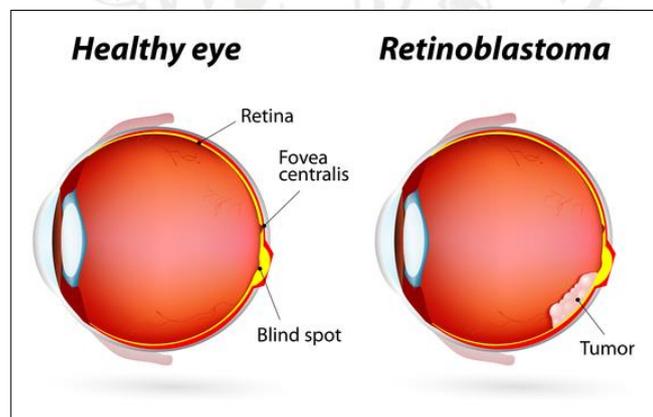
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

1.1 Retinoblastoma

2.1.1 Definisi

Retinoblastoma merupakan keganasan intraokuler primer yang paling umum pada anak-anak dan dapat memberikan dampak gangguan pada kesehatan dan penglihatan anak. Penyakit ini merupakan kanker retina dominan autosomal yang berkembang terutama pada anak di bawah usia lima atau enam tahun.¹ Tumor ini merupakan tumor neuroblastik yang secara biologi mirip dengan neuroblastoma dan medulloblastoma. Sel-sel tumor ini berasal dari sel-sel embrional retina sebelum differensiasi yang terakhir (retinoblast). Hal ini yang kemudian dinamakan retinoblastoma oleh Veorhoff, yang kemudian diadopsi *American Ophthalmology Society* pada tahun 1926 sebagai nama umum untuk kelainan ini.¹⁹



Gambar 2.1. Ilustrasi perbandingan mata normal dengan retinoblastoma.¹

Pada umumnya, tumor ini terdeteksi pertama kali ketika tumor putih tampak melalui pupil (dikenal sebagai leukokoria) atau penglihatan yang terhalang. Ketika diperhatikan lebih awal, terapi yang tepat dapat menyembuhkan kanker dan menyelamatkan satu mata (atau kedua mata) dan penglihatan. Akan tetapi, diagnosis yang terlambat dapat menyebabkan invasi ke dalam saraf optik dan otak yang tidak dapat disembuhkan, atau metastase ke anggota tubuh manapun kadang dapat disembuhkan dengan intervensi ekstensif.¹

2.1.2 Epidemiologi

Retinoblastoma merupakan tumor intraokular yang sering terjadi pada bayi dan anak. Retinoblastoma mewakili sekitar 4% dari keseluruhan keganasan pada anak. Insiden retinoblastoma berkisar antara 1:14.000 sampai 1:34.000 kelahiran hidup. Diperkirakan 250-350 kasus baru terdiagnosa di Amerika Serikat, 5000 kasus ditemukan di seluruh dunia.² Lebih dari 95% anak dengan retinoblastoma di Amerika Serikat dan beberapa negara maju bertahan atas keganasan ini, dimana sekitar 50% bertahan diseluruh dunia. Hal ini disebabkan oleh karena adanya deteksi dini yang dilakukan di Amerika Serikat dan negara maju lainnya dimana tumor masih intraokular, sedangkan pada beberapa negara berkembang tumor retinoblastoma sering terdiagnosa setelah adanya invasi ke orbita atau otak. Sekitar 6% penderita retinoblastoma memiliki riwayat retinoblastoma dalam keluarganya. Pada kasus-kasus ini diturunkan melalui gen autosomal dominan. Sekitar 94% kasus retinoblastoma muncul secara sporadik, 15%-nya membawa gen retinoblastoma.³

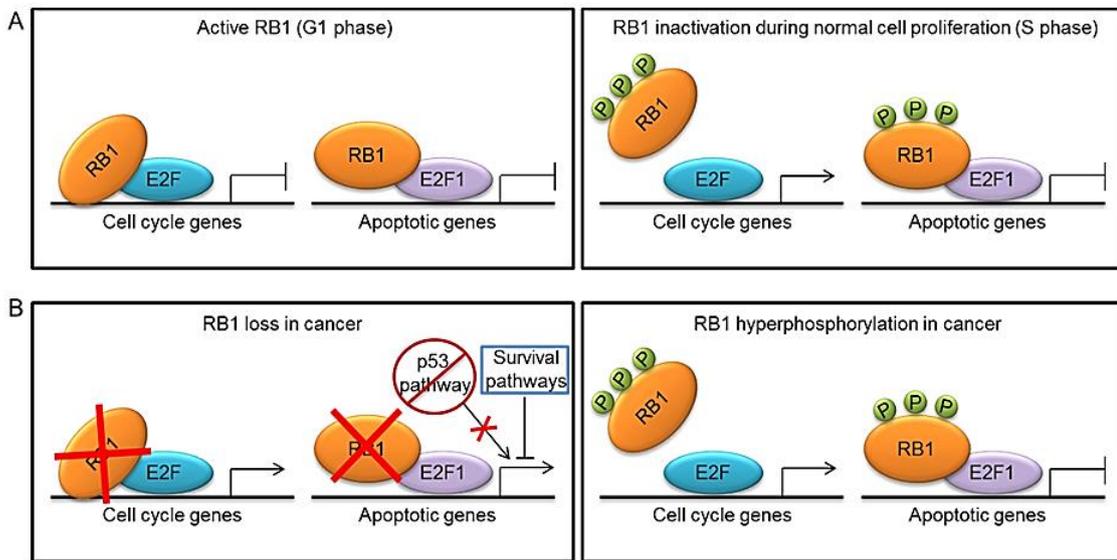
Dari keseluruhan pasien dengan retinoblastoma, sekitar 11% bertempat tinggal di negara berpendapatan tinggi, 69% di negara berpendapatan menengah dan 20% di negara berpendapatan rendah. Meskipun prevalensinya lebih tinggi di negara berpendapatan menengah dan rendah, sebagian besar pusat pengobatan retinoblastoma berada di negara berpendapatan menengah dan tinggi, sehingga hal ini menciptakan sebuah jarak dalam akses pelayanan kesehatan. Disesuaikan dengan pendapatan yang menjadi tolok ukuran standar hidup, retinoblastoma di negara berpendapatan rendah dikaitkan dengan angka harapan hidup yang rendah (~30%) dibandingkan dengan negara berpendapatan tinggi (>95%), tetapi data internasional yang komprehensif masih kurang.²⁰

2.1.3 Patogenesis

Retinoblastoma dikaitkan dengan mutasi gen retinoblastoma (RB1) pada sel retina tunggal yang rentan. Protein ini akan mengatur siklus sel retina sehingga tidak terjadi pertumbuhan sel retina yang berlebihan. Gen RB1 mengkode protein Rb, dimana fungsinya adalah sebagai tumor suppressor, dengan cara mengontrol siklus sel melalui interaksi kompleks dengan beberapa enzim kinase. Pada keadaan absennya stimulus mitogenik, RB1 akan menghambat siklus sel G1-S melalui hambatan pada gen target E2F yang berperan dalam proses sintesis DNA dan siklus sel. Fungsi protein ini diatur

melalui mekanisme fosforilasi yang diperantarai oleh *cyclin-dependent kinase* (CDK) complexes, CDK inhibitors dan aktivitas fosfatase. Ketika RB1 pada kondisi hiperfosforilasi, akan terjadi hambatan ikatan kompleks RB1 dengan E2F sehingga proses transkripsi DNA dan siklus sel dapat ditekan. Ketika RB1 mengalami fosforilasi yang diinisiasi oleh kompleks CDK sebagai respon sinyal mitogenik maka akan terjadi inaktivasi fungsi RB1 melalui disosiasi ikatan RB1 dan E2F.⁹

Pada kasus retinoblastoma, protein RB1 mengalami hiperfosforilasi sehingga menjadi inaktif yang selanjutnya berakibat replikasi DNA yang tidak terkontrol dan hasil replikasi yang tidak sempurna. Keadaan hiperfosforilasi tersebut dapat dipicu oleh virus yang mengubah protein regulator seperti adenovirus E1A, virus 40 (SV40) dan HPV-7. Berikut ini adalah gambar skematik yang menjelaskan mekanisme inaktivasi RB1 dalam proliferasi sel yang normal dan tumorigenesis.⁹

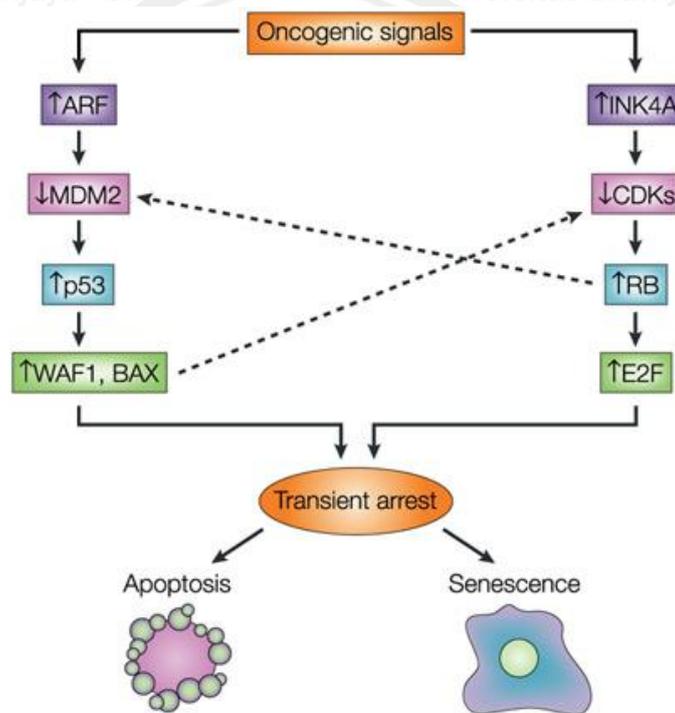


Gambar 2.2 Mekanisme inaktivasi RB1 dalam proliferasi sel normal (A) dan tumorigenesis (B)⁹

Selain RB1, tumor suppressor gen lain yang berperan pada fase G1 yaitu p53. Protein 53 (p53) merupakan *tumor-suppressor gene* yang berfungsi dalam mengontrol siklus sel dan apoptosis. Dalam keadaan adanya stress, kerusakan DNA atau sinyal onkogenik akan menginduksi ARF. ARF akan memecah MDM2 yang selanjutnya memfasilitasi degradasi dan aktivasi p53. Protein p53 memiliki efek baik aktivasi maupun inhibisi sehingga dapat mengontrol transkripsi beberapa gen. Aktivasi gen WAF1 dan inhibisi CDKs akan menyebabkan



terhentinya siklus sel. Sedangkan aktivasi protein BAX akan menyebabkan apoptosis sel. Pada retinoblastoma disebutkan terjadi inaktivasi jalur p53, meskipun tidak ditemukan mutasi gen penyandi protein 53 (TP53). Disregulasi ini dilaporkan karena peningkatan protein MDM4 dan MDM2 pada 63% dan 10% pasien retinoblastoma. Kedua protein tersebut berperan dalam inhibisi jalur aktivasi p53 sehingga bila jumlahnya meningkat maka akan terjadi inaktivasi jalur p53.⁶ Berikut ini merupakan gambar yang menjelaskan interaksi antara RB1 dan p53 dalam regulasi apoptosis sel:



Gambar 2.3 Interaksi p53 dan RB1 dalam regulasi apoptosis sel.⁶

Selain itu terdapat juga teori radikal bebas, Reactive oxide species seperti radikal bebas superoksida (O₂⁻) dan hidrogen peroksida (H₂O₂) memberikan peran penting terhadap inisiasi dan progresi dari karsinogenesis. Reactive oxide species yang bergabung bersama reactive nitrogen species secara endogen atau eksogen dinamakan "oxidative and nitrossative stress", kemudian hasilnya berupa agen vasoaktif nitrit oksida (NO). Agen vasoaktif NO disintesis dari asam amino L-Arginin oleh enzim nitrit oksida sintase (NOS), berfungsi sebagai vasodilator.²¹

Telah ditemukan tiga bentuk isoform dari enzim NOS yang mengkode tiga gen berbeda. Dua diantara isoform NOS adalah endotelial dependen kalsium dan tipe neural (eNOS dan nNOS); bentuk isoform lainnya induksi (iNOS) dan



aksinya tidak dependen kalsium. Telah ditemukan ekspresi gen eNOS dan iNOS pada jaringan tumor RB. Ekspresi gen eNOS ditemukan pada RB stadium awal maupun stadium invasif, sedangkan ekspresi gen iNOS lebih banyak ditemukan pada RB stadium invasif.²¹

2.1.4 Faktor Risiko

Faktor risiko retinoblastoma dapat berupa mutasi gen RB1 yang menyebabkan sel retinoblas membelah tidak terkontrol sehingga membentuk tumor. Mutasi ini dapat terjadi secara sporadic (didapat) yang bisa terjadi kapan saja selama hidupnya atau inherited (diwariskan) dari orang tua ke anak. Faktor risiko berikutnya adalah riwayat keluarga. Anak dengan orang tua yang mempunyai riwayat retinoblastoma bilateral mempunyai risiko 45%, sedangkan anak dengan orang tua yang mempunyai riwayat retinoblastoma unilateral mempunyai risiko 7,5% untuk mengalami retinoblastoma. Anak dengan riwayat saudara kandung yang mengalami retinoblastoma bilateral mempunyai risiko 5-7%, sedangkan untuk retinoblastoma unilateral mempunyai risiko 1%. Anak dengan saudara kandung yang mengalami retinoblastoma unilateral atau bilateral, disertai dengan riwayat orang tua yang juga mengalami retinoblastoma, memiliki risiko 45% untuk mendapatkan retinoblastoma.²²

Faktor risiko selanjutnya adalah status gizi anak. Status gizi anak menentukan diagnosis tingkat keparahan dan penatalaksanaan RB. Penelitian sebelumnya di RSUP H.Adam Malik periode 1999-2003, dari total 32 pasien, dijumpai ada 13 (40,6%) pasien retinoblastoma dengan malnutrisi berat, 9 (28,1%) pasien RB dengan malnutrisi sedang, dan 2 (6,3%) pasien dengan malnutrisi ringan, dan hanya 8 (25%) pasien RB dengan status gizi normal.²³ Kurangnya asupan folat selama kehamilan juga diprediksi berperan dalam faktor risiko retinoblastoma, terutama retinoblastoma unilateral, pada negara berkembang.²⁴ Selain itu, di negara berkembang, terdapat tingkat pendidikan dan kondisi sosioekonomi yang rendah, serta kurang memadainya sarana kesehatan. Hal ini mengakibatkan tertundanya diagnosis dan penatalaksanaan retinoblastoma yang optimal. Hal ini turut berperan dalam meningkatkan risiko retinoblastoma dan dapat memperparah kondisi anak.²⁵

2.1.5 Klasifikasi Retinoblastoma

Terdapat beberapa kriteria dalam klasifikasi retinoblastoma. Berdasarkan arah perkembangannya retinoblastoma dapat diklasifikasikan menjadi :²⁶



a) Intraokular (*endophytic*)

Intraokular retinoblastoma terlokalisasi hanya di dalam mata mencakup retina atau bisa memanjang sampai melibatkan koroid, badan siliar, anterior chamber, dan nervus optikus. Intraokular RB tidak menyebar sampai jaringan-jaringan di sekitar mata atau tubuh.

b) Ekstraokular (*exophytic*)

Ekstraokularretinoblastoma yang dikenal dengan proses metastasis merupakan perluasan intraokular retinoblastoma sampai diluar mata. Ekstraokular retinoblastoma dapat menyebar sampai ke jaringan sekitar mata atau menyebar lebih jauh lagi sampai ke sistem saraf pusat, sumsum tulang, atau nodus limfatikus (metastasis retinoblastoma).

c) Gabungan intraokular dan ekstraokular (*mixed endophytic-exophytic*)

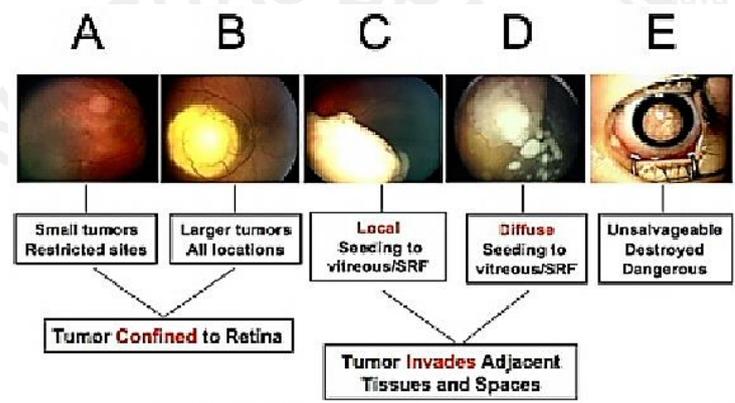
Klasifikasi *Reese-Ellsworth* merupakan klasifikasi yang banyak dipakai sampai saat ini. Klasifikasi ini berdasarkan pada jumlah tumor, ukuran dan lokasi tumor dalam bola mata. Klasifikasi ini juga dapat dipakai untuk menentukan terapi dan prognosa retinoblastoma intraocular. Semenjak klasifikasi Reese-Ellsworth diketahui menjadi prediktor yang buruk terhadap keberhasilan kemoreduksi, maka klasifikasi tersebut sudah tidak digunakan lagi. Sistem klasifikasi internasional untuk RB intraokular yang diperkenalkan pada tahun 2003 merupakan klasifikasi yang diterima saat ini dan digunakan dalam protokol terapi terbaru kelompok Onkologi Anak-anak. Sistem staging untuk RB ekstraokuler telah disusulkan dan diikuti, meskipun sering tidak berkaitan di area Amerika Serikat, di mana tingkat perluasan ekstraokuler yang rendah.²²

Tabel 2.1 Klasifikasi Reese-Ellsworth pada Retinoblastoma²²

Group	Likelihood of Globe Salvage	Features
I	Very favorable	<ul style="list-style-type: none"> Solitary tumor, less than 4 disc diameters, at or behind equator Multiple tumors, none over 4 disc diameters, all at or behind equator
II	Favorable	<ul style="list-style-type: none"> Solitary tumor, 4 to 10 disc diameters, at or behind equator Multiple tumors, 4 to 10 disc diameters, behind equator
III	Doubtful	<ul style="list-style-type: none"> Any lesion anterior to equator Solitary tumors larger than 10 disc diameters behind equator
IV	Unfavorable	<ul style="list-style-type: none"> Multiple tumors, some larger than 10 disc diameters Any lesion extending anteriorly to ora serrata
V	Very unfavorable	<ul style="list-style-type: none"> Massive tumors involving more than half of retina Vitreous seeding



Saat ini *American Joint Committee of Cancer Classification of RB* mengklasifikasikan retinoblastoma secara klinis dan patologis di bawah sistem staging TNM yang menyertakan keganaan sistemik. Ketika terapi baru telah tersedia, kolaborasi internasional yang dipimpin oleh Murphree mengembangkan *International Intraocular Retinoblastoma Classification (IIRC)*, yang memprediksi respon kemoterapi intravena (IVC) dengan lebih baik dibandingkan klasifikasi Reese–Ellsworth. IIRC mengklasifikasikan mata dalam Kelompok A-E, di mana Kelompok E merupakan yang paling parah. Akan tetapi, modifikasi berikutnya (Shields IIRC) menghasilkan dalam versi IIRC yang sangat berbeda, misalnya mata yang terlibat dengan berat (berbahaya) diklasifikasikan dengan mata yang terkena secara angulatal. Berikut ini klasifikasi IIRC :²⁷



Gambar 2.4. Klasifikasi Retinoblastoma berdasarkan *International Intraocular Retinoblastoma Classification (IIRC)*²⁵

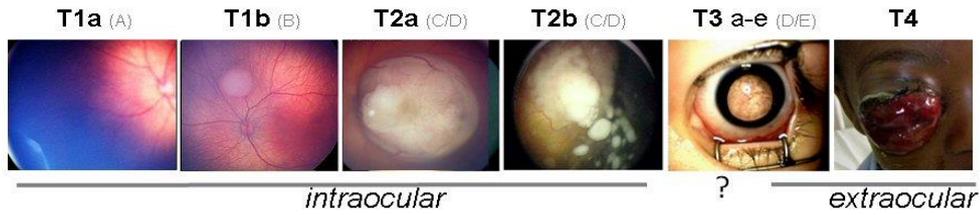
Tabel 2.2 Klasifikasi ABC pada Retinoblastoma

Group	Clinical features
A Very low risk	All tumors are 3 mm or smaller, confined to the retina, and located at least 3 mm from the foveola and 1.5 mm from the optic nerve. No vitreous or subretinal seeding
B Low risk	Retinal tumors may be of any size or location not in Group A. No vitreous or subretinal seeding allowed. A small cuff of subretinal fluid extending no more than 5 mm from the base of the tumor is allowed
C Moderate risk	Eyes with only focal vitreous or subretinal seeding and discrete retinal tumors of any size and location. Vitreous or subretinal seeding may extend no more than 3 mm from the tumor. Upto one quadrant of subretinal fluid may be present
D High risk	Eyes with diffuse vitreous or subretinal seeding and/or massive, nondiscrete endophytic or exophytic disease. More than one quadrant of retinal detachment
E Very high risk eyes	Eyes with one or more of the following Irreversible Neovascular glaucoma Massive intraocular hemorrhage Aseptic orbital cellulitis Phthisis or pre-phthisis Tumor anterior to anterior vitreous face Tumor touching the lens Diffuse infiltrating retinoblastoma

Selanjutnya, *Children's Oncology Group* (COG) menyisipkan variasi minor lebih lanjut. Sistem klasifikasi kanker TNM untuk semua kanker (yang didefinisikan dengan tumor primer (T), perluasan limfe nodi (N) dan metastase jauh (M)) adalah sistem lain yang sedikit berbeda yang digunakan untuk klasifikasi retinoblastoma. Berikut klasifikasi sistem TNM pada retinoblastoma :²⁸

Tabel 2.3 Sistem Staging TNM pada Retinoblastoma²⁸

TNM Staging System for Retinoblastoma
(Comparison with International Intraocular Rb Classification)



TNM CLASSIFICATION FOR RETINOBLASTOMA
(AJCC/UICC TNM, 6th edition January 2003)

PRIMARY TUMOR (pT)

- ___ pTX: Primary tumor cannot be assessed
- ___ pT0: No evidence of primary tumor
- ___ pT1: Tumor confined to the retina, the vitreous, or subretinal space. No optic nerve or choroidal invasion
- pT2: Minimal invasion of the optic nerve and/or optic coats**
 - ___ pT2a: Tumor invades optic nerve up to, but not through, the level of the lamina cribrosa
 - ___ pT2b: Tumor invades choroid focally
 - ___ pT2c: Tumor invades optic nerve up to, but not through, the level of the lamina cribrosa and invades the choroid focally
- pT3: Significant invasion of the optic nerve and/or optic coats**
 - ___ pT3a: Tumor invades optic nerve through the level of the level cribrosa but not to the line of resection.
 - ___ pT3b: Tumor massively invades the choroid
 - ___ pT3c: Tumor invades the optic nerve through the level of the lamina cribrosa but not to the line of resection and massively invades the choroid
- ___ pT4: Extraocular tumor extension that includes any of the following: invasion of optic nerve to the line of resection; invasion of orbit through the sclera; extension both anteriorly or posteriorly into the orbit; extension into the brain; extension to but not through, the chiasm; extension into the brain beyond the chiasm

REGIONAL LYMPH NODES (pN)

- ___ pNX: Regional lymph nodes cannot be assessed
- ___ pN0: No regional lymph node metastasis
- ___ pN1: Regional lymph node metastasis

DISTANT METASTASIS (pM)

- ___ pMX: Cannot be assessed
- pM1: Distant metastasis
 - ___ pM1a: Bone marrow
 - ___ pM1b: Other sites

*Specify, if known: _____

MARGINS

- ___ Cannot be assessed
- ___ No tumor at margins
- ___ Tumor present at surgical margin of optic nerve

2.1.6 Diagnosis Retinoblastoma

Diagnosis retinoblastoma ditegakkan berdasarkan dari anamnesa, manifestasi klinis dan pemeriksaan penunjang.



2.1.6.1 Anamnesa

Anamnesa sangat diperlukan dan dapat membantu member tambahan informasi mengenai retinoblastoma. Beberapa yang harus ditanyakan antara lain adanya mata putih (*leukokoria*) dan mata juling, onset timbul gejala, penurunan tajam penglihatan, riwayat kehamilan, riwayat trauma pada mata sebelumnya, pemakaian oksigen dengan konsentrasi tinggi, riwayat tumbuh kembang, kontak dengan hewan peliharaan serta riwayat keluarga apakah pernah kehilangan satu mata atau menderita tumor ganas pada mata.¹

2.1.6.2 Manifestasi klinis

Diagnosis retinoblastoma biasanya tampak jelas dari tanda yang muncul dan pemeriksaan klinis. Tanda yang paling umum adalah leukokoria (pupil putih). Ketika orang tua mengeluhkan pantulan yang aneh pada mata anaknya, retinoblastoma seharusnya menjadi diagnosis banding yang utama. Tanda yang paling umum kedua adalah strabismus, ketika penglihatan pusat terganggu. Stadium penyakit lebih lanjut kemungkinan muncul dengan perubahan warn iris, pembesaran kornea dan mata dikarenakan tekanan yang meningkat, atau inflamasi orbita non-inflamasi. Pada stadium penyakit yang sangat lanjut, mata menjadi menonjol dari orbita, gejala umum dalam kondisi di mana kesadaran dan informasi kesehatan tidak adekuat.²⁹



Gambar 2.5 Gambaran leukokoria atau *white cat appearance* pada mata kiri²⁹

Temuan klinis terbanyak di dunia saat didiagnosis adalah leukokoria (90%) dan strabismus (35%). Akan tetapi, temuan klinis tersebut memiliki perbedaan berdasarkan faktor sosiodemografi suatu negara. Penelitian di beberapa negara maju, yaitu Amerika, Inggris, Swiss, dan Finlandia menemukan bahwa leukokoria terjadi pada 50-60%, strabismus baik esotropia maupun eksotropia 20-25%, dan tanda radang (mata merah atau selulitis pseudoorbital) 6-10%.³⁰

Penelitian di RS Cipto Mangunkusumo, dari 64 pasien RB baru, leukokoria ditemui sebanyak 19 pasien (30%), leukokoria disertai proptosis sebanyak 41 pasien (64%), buftalmos 2 pasien (3%), dan mata merah 2 pasien (3%). Penelitian di Sumatera Utara, di RSUP H. Adam Malik Medan, dari total 61 pasien (53 unilateral dan 8 bilateral), gejala klinis terbanyak adalah proptosis yang ditemui sebanyak 40 kasus (54,1% pada unilateral RB dan 11,4% pada bilateral RB). Berdasarkan penelitian-penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa gejala klinis di Indonesia lebih banyak ditemukan proptosis dibandingkan leukokoria.³¹

Adapun gambaran lain dari retinoblastoma yang jarang dijumpai seperti heterokromia, hifema, perdarahan vitreus, glaukoma, proptosis dan hipopion. Keluhan penglihatan jarang didapatkan dikarenakan retinoblastoma terjadi pada anak-anak usia prasekolah, keluhan penglihatan dijumpai pada anak-anak yang lebih besar. Biasanya gejala subyektif yang muncul adalah penglihatan menurun.³²

Pola pertumbuhan retinoblastoma dapat berupa endofitik dan eksofitik. Pada pertumbuhan endofitik, tampak sebagai gambaran massa putih sampai coklat muda yang menembus membrane limitans interna. Sedangkan pola pertumbuhan endofitik kadang berhubungan dengan *vitreous seeding* dimana sebagian kecil meluas memberikan gambaran klinis mirip endoftalmitis. Vitreus juga memasuki bilik mata depan, berkumpul di iris membentuk nodul atau menimbulkan gejala lain seperti iris heterokromia, hifema, pseudohipopion, dan glaukoma sekunder.³³

Retinoblastoma dapat menyebar baik secara lokal maupun ekstraokular atau metastase. Penyebaran lokal berupa penyebaran intraocular dan invasi ke khoroid, saraf optik dan sklera. Adapun penyebaran secara ekstraokular atau metastase melalui 5 jalur, melalui aliran darah (hematogen), cairan serebrospinal, antara rongga orbita, ekspansi transklera dan cairan limfe.³³

2.1.6.3 Pemeriksaan penunjang

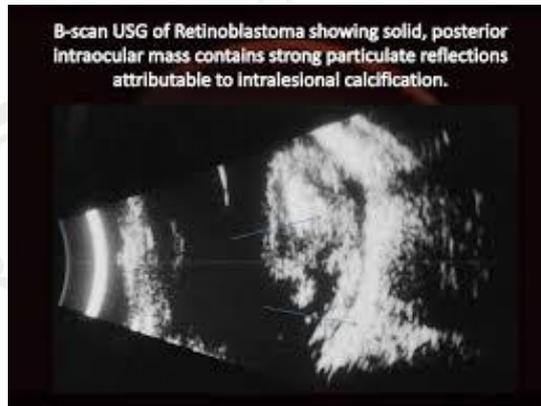
Pemeriksaan penunjang diperlukan untuk menegakkan diagnose retinoblastoma. Pemeriksaan yang dilakukan antara lain :

a) *Foto Polos Orbita*

Pemeriksaan foto polos orbita berguna untuk mencari daerah kalsifikasi, melihat pelebaran kanalis optikus dan adanya destruksi tulang.³⁴

b) *Ultrasonografi (USG) Mata*

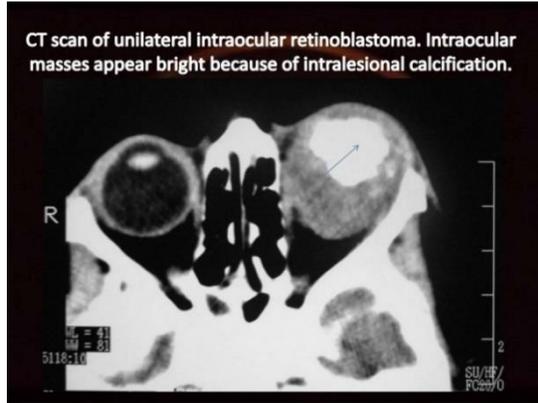
Dilakukan pada penderita yang belum mengalami proptosis. Dari pemeriksaan USG dapat diketahui letak, ukuran dan bentuk massa yang berada di dalam bola mata. Gambaran USG pada retinoblastoma memperlihatkan yang khas, yaitu adanya reflektivitas yang tinggi pada A-scan yang merupakan tanda kalsifikasi. Tanda ini pada gambaran B-scan menunjukkan adanya “*shadowing effect*” yang merupakan tanda khas retinoblastoma.³⁴



Gambar 2.6 Gambaran USG Retinoblastoma³⁴

c) *CT Scan Orbita*

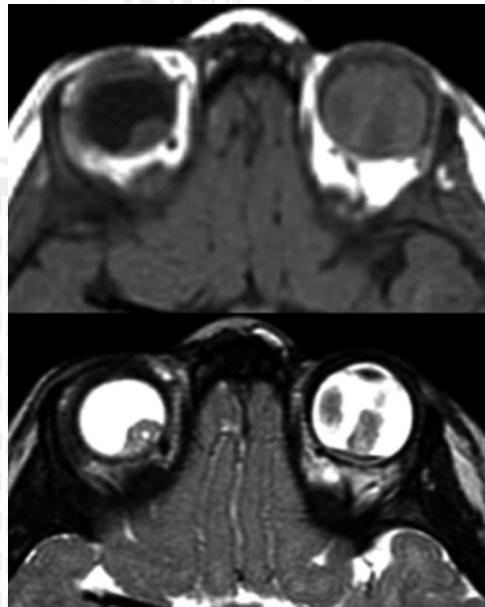
Pemeriksaan CT scan merupakan pemeriksaan radiologi yang direkomendasikan pada retinoblastoma dibandingkan MRI. CT scan dapat menunjukkan massa intraokular dengan densitas yang tinggi dibandingkan badan vitreus, kalsifikasi pada 90% kasus dan menunjukkan *moderate enhanced* setelah pemberian kontras *iodine*. Tes ini dapat memberi keterangan mengenai ukuran massa RB dan bagaimana penyebarannya di dalam dan sekitar mata, digunakan untuk menilai perluasan tumor ke arah retrobulbar, mendeteksi adanya metastasis ke intrakranial, menemukan adanya tumor primer yang lain (*second primary tumor*) ataupun membedakan dengan lesi yang lain yang secara klinis sudah terdiagnosa menderita retinoblastoma. Selain itu juga mampu mendeteksi adanya kalsifikasi dengan diameter 2 mm dimana adanya kalsifikasi intraokular merupakan tanda patognomonik untuk retinoblastoma. Pemeriksaan CT scan orbita ini juga digunakan untuk menentukan rencana terapi dan memperkirakan prognosa penyakit. Apabila diduga adanya metastase jauh dapat dilakukan CT scan tulang, hepar/adrenal, otak maupun peritoneum. Akan tetapi, CT scan mempunyai kelemahan radiasi tinggi.³⁴



Gambar 2.7 Gambaran CT scan retinoblastoma. Tampak gambaran kalsifikasi pada CT Scan Penderita³⁴

d) *MRI (Magnetic Resonance Imaging)*

Tes MRI sangat berguna jika ada kecurigaan metastasis ekstraokular (sering pada metastasis intrakranial) dimana anak datang dengan tekanan intrakranial yang meningkat dan dicurigai adanya trilateral retinoblastoma.⁵⁸ Pemeriksaan MRI digunakan untuk melengkapi pemeriksaan CT scan. Keuntungan pemeriksaan menggunakan MRI adalah kemampuan pemeriksaan multiplanar, superioritas dalam pencitraan jaringan lunak, lebih spesifik untuk mengetahui adanya penyebaran sel tumor ke cairan subretina, saraf optikus maupun ke subarachnoid. Bila dibandingkan dengan CT scan, pemeriksaan MRI kurang sensitif untuk mendeteksi adanya kalsifikasi intra tumor. Selain itu dengan pemeriksaan menggunakan MRI dapat juga menunjukkan adanya ablasi retina maupun penumpukan cairan subretina.³⁴



Gambar 2.8 Gambaran MRI pada Pasien Retinoblastoma³⁴

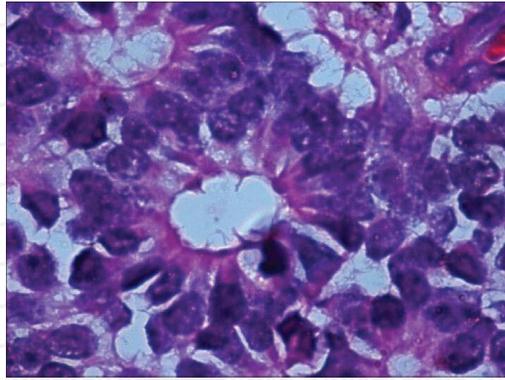
e) *Pemeriksaan Patologi Anatomi*

Pemeriksaan PA terhadap tumor bertujuan untuk konfirmasi diagnosis histopatologik beserta diferensiasi tumor dan penetapan perluasan tumor. Hasil pemeriksaan ini dapat memberikan informasi untuk pengobatan lebih lanjut dan penentuan prognosis penyakit. Biopsi pada RB tidak dilakukan sebab dapat memicu rusaknya jaringan tumor sehingga tumor dapat menyebar lebih cepat. Pemeriksaan histologi retinoblastoma setelah enukleasi pada mata yang terkena adalah satu-satunya cara mengevaluasi gambaran resiko tinggi (invasi tumor ke dalam saraf optik di luar batas mata atau sampai ke potongan akhir saraf; invasi lapisan vaskuler (koroid) >3 mm di bawah retina; atau invasi ke sklera) dan cara menegakkan staging patologis.³⁵

Persiapan dan pemeriksaan enukleasi mata telah dioptimalkan untuk mengevaluasi semua gambaran resiko. Spesimen patologi digolongkan menggunakan skema klasifikasi patologi TNM dan IRSS. Akan tetapi, pemeriksaan retrospektif masih terlalu sering menemukan resiko yang tidak teramati sebelumnya setelah didiagnosis penyakit metastasis. Pewarnaan marker spesifik untuk sel fotoreseptor (faktor transkripsi *cone-rod homeobox* (CRX)) dan untuk sel tumor (N-glycosylated ganglio side) dapat memudahkan deteksi sel tumor pada sisi ekstraokuler yang kadang terlupakan.³⁵

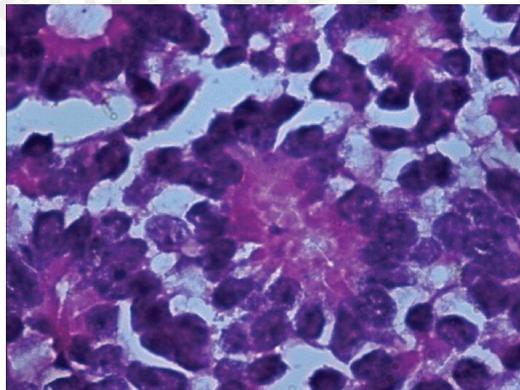
Gambaran histopatologi yang khas pada retinoblastoma yang biasa didapatkan adalah *Flexner-Wintersteiner rosettes*, sedangkan gambaran *fleurettes* jarang dijumpai. *Homer-Wright rosettes* sering dijumpai tetapi kurang spesifik untuk retinoblastoma karena sering juga dijumpai pada tumor neuroblastik lain.³⁶ Tumor terdiri dari sel *basophilic* kecil (retinoblast), dengan nucleus hiperkromatik besar dan sedikit sitoplasma. Kebanyakan retinoblastoma ditandai dengan pembentukan *Rosettes* yang terdiri dari 3 tipe³⁵

1. *Flexner-Wintersteiner Rosettes*, yang terdiri dari lumen sentral yang dikelilingi oleh sel kolumnar tinggi. Tipe ini yang disebut dengan *true rosette*



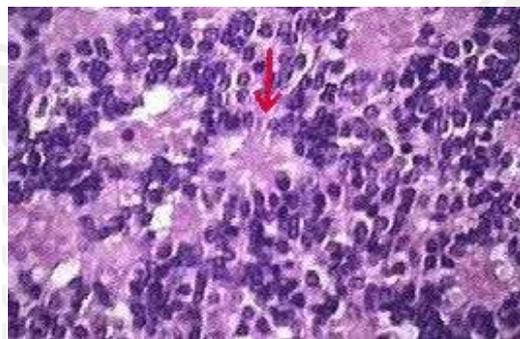
Gambar 2.9 Gambaran *Flexner-Wintersteiner Rosettes* dengan lumen jernih di sentral ³⁵

2. *Homer-Wright Rosettes*, rosettes yang tidak mempunyai lumen dimana bentuk ini tidak spesifik untuk retinoblastoma, karena gambaran histologist ini dapat ditemukan juga pada neuroblastoma dan meduloblastoma.



Gambar 2.10 Gambaran *Homer-Wright Rosettes* yang tidak memiliki lumen dengan pusat tertutup filamen neural ³⁵

3. *Florettes* merupakan focus sel tumor yang menunjukkan diferensiasi fotoreseptor, kelompok sel dengan proses pembentukan sitoplasma dan tampak menyerupai seperti karangan bunga.



Gambar 2.11 Gambaran *Florettes* pada retinoblastoma dengan seluruh sel fotoreseptor tampak berdiferensiasi ³⁵

f) **Diagnosis Genetik**

Beberapa pasien dengan retinoblastoma adalah individu pertama yang harus didiagnosa dalam suatu keluarga; hanya 6% pasien terindikasi ketika diperiksa mengenai mutasi RB1 dimana anggota keluarga sebelumnya didiagnosa retinoblastoma. Akan tetapi, studi berbasis populasi di Inggris menyatakan bahwa 35% dari pasien yang terkena RB bilateral memiliki riwayat keluarga.³⁵ Pada tiga studi berbasis populasi dengan 2,738 pasien retinoblastoma, 30-37% kasus adalah kasus bilateral. Ketika 15-18% kasus unilateral yang juga membawa alel mutan RB1, maka sekitar 45% orang dengan retinoblastoma membawa satu mutasi RB1 dalam sel utamanya. Dari pasien dengan retinoblastoma unilateral, 98% mempunyai gen RB1 bialel somatik yang hilang dan 2% mempunyai gen RB1 yang normal tetapi digantikan dengan amplifikasi onkogen MYCN somatic.²⁸

Pengetahuan mengenai profil mutasi RB1 pasien memungkinkan menjadi skrining hubungan dan generasi selanjutnya yang tepat dan akurat. Tanpa pemeriksaan genetik, semua anak beresiko (yang sudah mengenai satu mata dan /atau riwayat keluarga positif) seharusnya menjalani pemeriksaan multipel dengan anastesi pada 3 tahun pertama kehidupan untuk mendeteksi tumor kecil yang masih mudah diobati. Ketika pemeriksaan genetik memperlihatkan mutasi RB1 dalam sebuah keluarga, anak yang beresiko dapat menjalani pemeriksaan terhadap mutasi tersebut. Dari pasien dengan RB unilateral, 85% testnya negatif, dengan *residual risk* <1% untuk mosaikism level rendah yang tidak terdeteksi, di mana menurunkan intensitas surveilan tumor pada mata normal dan memperbaiki perkiraan resiko kanker pada anggota keluarga.³⁷ Pada retinoblastoma familial, skrining prenatal dapat dilakukan dengan pengambilan DNA dari cairan amnion. Ketika pemeriksaan prenatal menghasilkan temuan yang positif, tim retinoblastoma dapat bekerja dengan spesialis untuk menginduksi persalinan mendekati matur dengan aman agar memudahkan deteksi dan terapi tumor retinoblastoma sedini mungkin. Diagnosis genetik preimplantasi terhadap mutasi orang tua yang sudah diketahui memberikan pilihan pada keluarga untuk mempunyai anak yang tidak terkena retinoblastoma.²⁸

2.1.7 Diagnosa banding

Sejumlah gangguan mata pada bayi dan anak-anak secara klinis dapat menyerupai retinoblastoma. Meskipun penampilan klasik retinoblastoma, hampir

50% pasien yang didiagnosis awalnya dengan kemungkinan retinoblastoma, namun saat rujukan ke ahli onkologi okular dilakukan simulasi dan ternyata bukan retinoblastoma. Pseudoretinoblastoma yang paling umum antara lain meliputi *persistent hyperplastic primary vitreous*, *Coats'disease*, dan toksocariasis okular. Oleh karena itu, penting agar diagnosis retinoblastoma ditetapkan tanpa keraguan sebelum memulai pengobatan. Konsultasi dengan ahli onkologi okular yang berpengalaman dengan retinoblastoma dapat membantu dalam mengkonfirmasi diagnosis klinis retinoblastoma dan membantu dalam rencana terapi untuk penyakit yang berpotensi fatal ini.³⁸

2.1.8 Penatalaksanaan

Tujuan utama dari penatalaksanaan RB adalah menyelamatkan hidup pasien, sedangkan kembalinya fungsi visual mata merupakan tujuan sekunder. Penatalaksanaan RB melibatkan tim dari berbagai multidisiplin, yaitu disiplin ilmu onkologi mata, onkologi pediatrik, onkologi radiasi, onkologi psikiatri, genetika, dan onkopatologi oftalmologi. Strategi manajemen tata laksana retinoblastoma tergantung dari tingkat keparahannya, seperti retinoblastoma intraokular, retinoblastoma dengan karakteristik risiko tinggi, retinoblastoma orbital dan retinoblastoma metastasis.⁸

Tata laksana untuk retinoblastoma intraokular meliputi enukleasi, *external beam radiation therapy* (EBRT), *cryotherapy*, laser fotokoagulasi, *thermotherapy*, *brachytherapy* serta kemoterapi sistemik. Sedangkan untuk tata laksana RB ekstraokular diberi terapi lebih lanjut.³⁹

2.1.8.1 Terapi Retinoblastoma Intraokuler

a) E nukleasi

E nukleasi merupakan terapi lini pertama untuk dominan mata dengan retinoblastoma secara global. Sebagian besar anak tanpa riwayat keluarga retinoblastoma masuk dalam kelompok penyakit D atau kelompok E pada klasifikasi Murphree IIRC saat didiagnosis dan >50% memiliki penyakit retinoblastoma unilateral dengan mata lain tidak terkena sehingga pengobatan dapat dicapai dengan enukleasi. Sebagian besar kelompok mata E membutuhkan enukleasi karena mereka memiliki resiko penyebaran ekstraokuler dan ini dapat dikonfirmasi hanya dengan indentifikasi gambaran patologis resiko tinggi pada mata yang menjalani enukleasi. Hasil kosmetik yang bagus didapat

dengan penggantian bola mata dengan implan dalam orbita dan prostetik yang dipasang dalam kantung konjungtiva di belakang kelopak mata.⁴⁰

E nukleasi merupakan pilihan tata laksana untuk retinoblastoma intraokular unilateral dengan klasifikasi grup E yang melibatkan neovaskularisasi iris, glaukoma sekunder, tumor invasif anterior chamber, tumor >75% volum vitreous, tumor nekrosis dengan inflamasi sekunder orbital, tumor terkait hifema atau perdarahan vitreous, dimana karakteristik tumor tidak bisa dilihat, dan melibatkan satu mata. Metode enukleasi dilakukan dengan mengangkat penuh mata hingga ke nervus optikus kemudian dilakukan pemeriksaan histopatologinya.³⁹

b) *External Beam Radiation Therapy (EBRT)*

EBRT merupakan pilihan tata laksana untuk retinoblastoma bilateral tingkat lanjut, dimana ditemukannya bercak difus pada vitreous, pada pasien yang menolak dilakukannya tindakan enukleasi setelah gagal bentuk terapi konservatif lainnya. Akan tetapi, EBRT mempunyai kelemahan karena dapat memicu efek komplikasi lokal dan dapat mengakibatkan kanker sekunder pada daerah sekitar radiasi setelah RB sembuh.³⁹

EBRT sudah tidak lagi direkomendasikan sebagai terapi lini pertama retinoblastoma intraokuler primer, sebagaimana radiasi yang memiliki resiko tinggi perkembangan kanker sekunder terutama pada tahun pertama kehidupan ketika pasien membawa mutasi RB1. Meskipun tidak terdapat peran EBRT dalam terapi utama retinoblastoma intraokuler, masih terdapat peran ketika menekankan pada penyelamatan mata yang tersisa jika terapi lain gagal. Analisis komprehensif dari literatur yang telah dipublikasikan mengenai penyelamatan mata melalui beberapa strategi dibingungkan oleh penggunaan lima sistem klasifikasi yang berbeda.³⁹

c) *Cryotherapy*

Cryotherapy merupakan pilihan tata laksana untuk tumor kecil pada garis ekuator atau retina perifer dengan ukuran diameter basal ≤ 4 mm dan ketebalan 2mm. *Cryotherapy* menghancurkan tumor primer kecil atau rekurensi secara efektif di bagian perifer retina. *Cryotherapy* diaplikasikan pada retinoblastoma dengan interval 4-6 minggu sampai tumor mengalami regresi. Akan tetapi, *cryotherapy* mempunyai kelemahan, yaitu meninggalkan jaringan parut lebih besar dari tumor. Komplikasi lebih lanjut meliputi lepasnya retina sementara, robekan retina, maupun rhegmatogenous retinal detachment.⁴¹



d) *Laser Fotokoagulasi*

Laser fotokoagulasi merupakan pilihan tata laksana untuk tumor posterior kecil dengan diameter basal 4 mm dan ketebalan 2 mm. Tujuan terapi ini untuk regresi tumor dan mengkoagulasikan suplai aliran darah menuju tumor dengan menggunakan laser. Komplikasi dapat berupa lepasnya retina sementara, oklusi vaskuler retina, robekan retina, traksi retina dan fibrosis preretinal.⁴¹

Dua jenis terapi laser dilakukan setiap bulan sampai tumor menipis, atrofik atau kalsifikasi. Termoterapi transpupillary melibatkan arahan laser dioda 810 nm melalui pupil yang dilebarkan untuk memanaskan tumor, dan dibanding menggumpalkan tumor secara akurat, selama 3-5 menit per titik. Terapi fotokromulasi dengan sinar laser 532 nm, 810 nm atau gelombang 1064 nm terus menerus diberikan secara langsung melalui beberapa pembakaran jarak dekat (0,7 detik) pada tumor kecil, tumor aktif atau yang dicurigai, yang secara bertahap meningkatkan daya dari intensitas kekuatan subkoagulasi sampai tumor menggumpal. dan berwarna putih buram. Sebaliknya, cryotherapy melibatkan pembekuan tumor melalui sklera dengan probe nitrous oxide; tumor divisualisasikan secara langsung dan durasi pembekuan disesuaikan dengan bentuk tumor secara keseluruhan. Setelah sel tumor mati, kemudian dидiamkan 1 menit untuk setiap pencairan di antara siklus pembekuan.⁴¹

e) *Thermotherapy*

Thermotherapy merupakan pilihan tatalaksana untuk tumor kecil dengan diameter 4 mm dan ketebalan 2 mm. Metodenya dengan melakukan radiasi sinar inframerah level subfotokoagulasi pada jaringan untuk menginduksi nekrosis tumor dan mencegah rusaknya pembuluh darah retina. Regresi tumor secara komplit dapat mencapai 85% setelah dilakukannya 3-4 kali thermotherapy.⁴¹

f) *Brachytherapy dengan plak I-125 atau Ro-106*

Plaque brachytherapy menggunakan zat radioaktif (umumnya I-125 atau Ro106) yang diimplantasikan pada sklera. Tujuannya adalah untuk radiasi tumor secara transsklera. Kelebihannya adalah radiasi fokal tumor sehingga tidak menyebabkan rusaknya jaringan normal di sekitar tumor.⁴⁰

g) *Kemoterapi*

Kemoterapi merupakan pilihan tatalaksana pada pasien dengan tujuan mengurangi volum tumor sampai ukuran dimana terapi laser bisa diberikan.

Terapi ini juga efektif untuk kelainan vitreous, subretinal dan ekstraokular

maupun metastasis. Beberapa jenis teknik kemoterapi pada retinoblastoma antara lain IVC, IAC.⁴²

Sejak tahun 1996, terapi lini pertama dalam mengendalikan kelompok penyakit B, C dan D Murphree IIRC adalah melalui IVC (*intravenous chemotherapy*) dengan kombinasi, dosis, jadwal dan durasi *carboplatin, etoposide and vincristin* (CEV) yang berbeda dilanjutkan dengan terapi fokal untuk menggabungkan respon kemoterapi.⁴³ Prinsip dasar untuk terapi kanker sistemik juga berlaku pada retinoblastoma yaitu mencapai hasil optimal dengan intensitas dosis tinggi dan kombinasi beberapa agen dengan mekanisme tindakan komplementer. Toksisitas akut IVC pada retinoblastoma sama seperti halnya pada penderita kanker pediatrik lainnya, meliputi pansitopenia transien, rambut rontok, neurotoksisitas dan infeksi. Toksisitas jangka panjang meliputi toksisitas yang diinduksi carboplatin yaitu kehilangan pendengaran nada tinggi pada beberapa pasien, risiko kanker non-okular sekunder oleh agen alkilasi dan leukemia myeloid akut sekunder setelah kemoterapi dengan inhibitor topoisomerase, agen doxorubicin dan alkilasi.⁴⁴

IVC sendiri masih belum bisa menghilangkan retinoblastoma sepenuhnya, sehingga terapi fokal dengan pemeriksaan berulang sangat penting dilakukan. Tumor di wilayah makula, yang mengancam penglihatan, sangat berisiko rekuren tanpa terapi fokal, kemungkinan dikarenakan oleh kewaspadaan agar tidak merusak penglihatan akibat tindakan tersebut. OCT (*optical coherence tomography*) dapat digunakan untuk memantau tumor makula dan bekas luka terhadap rekurensi yang angulatal sehingga dapat memperbaiki *outcome*.⁴²

Lokasi tumor adalah prediktor ketajaman visual akhir yang paling penting (ketajaman visual mendekati normal $\geq 0,5$ pada 22% mata dengan tumor makula dan pada 67% mata dengan tumor ektrafoveal). Pada tumor anak-anak yang mengenai dua mata, memanfaatkan mata yang lebih baik untuk memaksa penggunaan mata yang perkembangannya tergantung pada mata lainnya dengan keterlibatan makula akan mencapai penglihatan dekat normal pada 53% dan penglihatan yang penuh pada 73% pasien. Tidak ada laporan mengenai toksisitas lokal IVC pada mata.⁴²

IAC (*intra-arterial chemotherapy*) telah digunakan untuk terapi selama beberapa dekade di Jepang dan baru-baru ini disempurnakan untuk mencapai penyampaian yang lebih selektif ke mata. Ahli radiologi intervensi melewati



mikrokontroler melalui arteri femoralis sampai ke lubang arteri mata yang menderita retinoblastoma kemudian kemoterapi (obat tunggal atau kombinasi; melphalan, topotecan dan/atau carboplatin) diinfuskan dalam pola hitungan nadi lebih dari 30 menit. Tiga studi IAC dengan mayoritas pasien yang memiliki follow up rata-rata 13-79 bulan dengan total 488 pasien, menunjukkan bahwa IAC dapat menyelamatkan mata sebanyak 65% dari semua mata yang terkena. Dalam sebuah penelitian, keberhasilan penyelamatan mata secara keseluruhan adalah sebesar 74% ketika IAC digunakan sebagai pengobatan lini pertama dan sebesar 67% bila digunakan sebagai pengobatan lini kedua.⁴²

Komplikasi okular yang disebabkan oleh IAC meliputi perdarahan vitreous (2%), sumbatan arteri retina cabang (1%), spasme arteri oftalmik dengan reperfusi (2%), obstruksi arteri oftalmik (2%), iskemia choroidal parsial (2%) dan neuropati optik (<1%). Komplikasi transien ringan saat prosedur IAC meliputi termasuk edema kelopak mata sementara (5%), blepharoptosis (kelopak mata berkabut, 5%) dan peningkatan aliran darah ke dahi (2%). Electroretinogram menunjukkan sedikit bukti toksisitas retina yang berlangsung hingga 12 bulan, yang tidak dianggap relevan secara klinis.⁴²

Terapi fokal yang meliputi terapi laser dan cryotherapy. Terapi fokal adalah penerapan terapi lokal ke mata, di bawah penglihatan langsung melaluikupil yang dilebarkan secara farmakologis. Terapi fokal adalah pengobatan utama untuk Kelompok A Murphree IIRC dan digunakan untuk menggabungkan respon mata kelompok B, C dan D setelah IVC atau IAC dengan tujuan untuk menghancurkan secara fisik sisa retinoblastoma residual atau rekurensi yang aktif berukuran kecil. Secara umum, terapi fokal diulang setiap bulan sampai tumornya menjadi atrofi atau kalsifikasi dengan lengkap.⁴²

Kemoterapi intravitreal dilakukan jika terapi primer gagal dengan adanya benih vitreus. Kemoterapi intravitreal merupakan tambahan terhadap terapi lainnya dan dimulai hanya setelah sumber benih bisa dikendalikan. Penggunaan kemoterapi intravitreal untuk mengendalikan benih vitreous sangat menjanjikan, terutama dalam kombinasi dengan teknik injeksi yang disempurnakan dengan aman dan kriteria kelayakan yang jelas. Di bawah kendali anestesi, tekanan intraokular diturunkan dengan mengeluarkan sedikit cairan dari ruang anterior atau dengan pijat digital. Kemoterapi disuntikkan ke vitreous di balik lensa melalui konjungtiva, sklera dan pars plana dengan jarum berukuran kecil. Setelah penarikan jarum, tempat suntikan disegel dan disterilkan dengan krioterapi dan

mata digerakkan dengan lembut untuk mendistribusikan obat tersebut ke seluruh vitreous.⁴²

Kombinasi terapi dapat digunakan untuk target area relaps. Untuk relaps yang terbatas pada retina dan/atau vitreous, maka dianjurkan terapi fokal dan/atau intravitreal selama terapi *whole-eye* tidak diperlukan. Tumor rekuren yang mengenai saraf optik dan/atau daerah penglihatan kritis seperti bundel maculopapillary, serta tumor retina atau subretinal dangkal yang difus, merupakan indikasi yang baik untuk IAC, yang mungkin bisa menghasilkan visus yang lebih baik daripada terapi fokal.⁴²

2.1.8.2 Terapi Retinoblastoma Ekstraokuler

Retinoblastoma ekstraokular dapat terjadi dengan kemunculan penyakit ekstraokular, terutama di negara-negara berpenghasilan rendah. Perluasan orbita dari retinoblastoma intraokular dapat dideteksi secara klinis pada anak-anak dengan proptosis atau masa fungasi atau kadang-kadang dengan pemeriksaan pencitraan. Pengobatan meliputi kemoterapi neoadjuvant menggunakan CEV, cisplatin, siklofosamid dan anthracyclines untuk retinoblastoma intraokuler kemudian dilanjutkan dengan enukleasi dan eksisi terbatas pada jaringan yang terkena, radiasi orbital dan kemoterapi ajuvan.³⁹ Kemoterapi juga dapat digunakan dan kemoterapi dosis tinggi dengan penyelamatan sel induk dapat ditambahkan pada penyakit metastatik. Anak-anak dengan penyakit orbital atau penyebaran metastase tanpa invasi sistem saraf pusat dapat disembuhkan dengan terapi intensif. Hasil jangka panjang pada pasien retinoblastoma yang muncul dengan penyakit ekstraokular dipersulit oleh efek yang berkembang di akhir, namun secara keseluruhan hasilnya adalah cukup.²⁹

2.1.8.3 Terapi Paliatif

Terapi paliatif meliputi manajemen nyeri, mengurangi gejala, dukungan nutrisi dan dukungan psikososial untuk anak dan keluarga. Retinoblastoma yang tidak diobati sangat sensitif terhadap kebanyakan agen kemoterapi. Anak-anak yang mengalami retinoblastoma orbital biasanya mengalami rasa sakit dan ketidaknyamanan yang berat yang dapat diatasi dengan penggunaan terapi antikanker dengan tepat, termasuk kemoterapi konvensional, walaupun tidak ada maksud penyembuhan yang dilakukan. Pasien sering mengalami penurunan

berat badan yang drastis yang membutuhkan perawatan medis segera.

Radioterapi juga bisa membantu, terutama untuk relaps sistem saraf pusat atau untuk pengobatan perluasan orbit yang massif.⁴⁴

2.1.9 Prognosis

Prognosis retinoblastoma ditentukan oleh beberapa faktor yaitu faktor histiologis dan faktor klinis. Faktor histiologis adalah ada tidaknya invasi sel tumor dan diferensiasi sel tumor. Adanya invasi sel tumor ke khoroid, nervus optikus dan orbita merupakan tanda prognosa yang jelek. Dari faktor diferensiasi sel tumor didapatkan angka mortalitas lebih rendah apabila semakin banyak gambaran *rosettes* dibandingkan dengan *highly undifferentiated tumor*. Faktor klinis adalah kecepatan dan ketepatan diagnosis, riwayat operasi intraocular sebelumnya dan penggunaan terapi tambahan *external beam radiotherapy*.⁴⁵

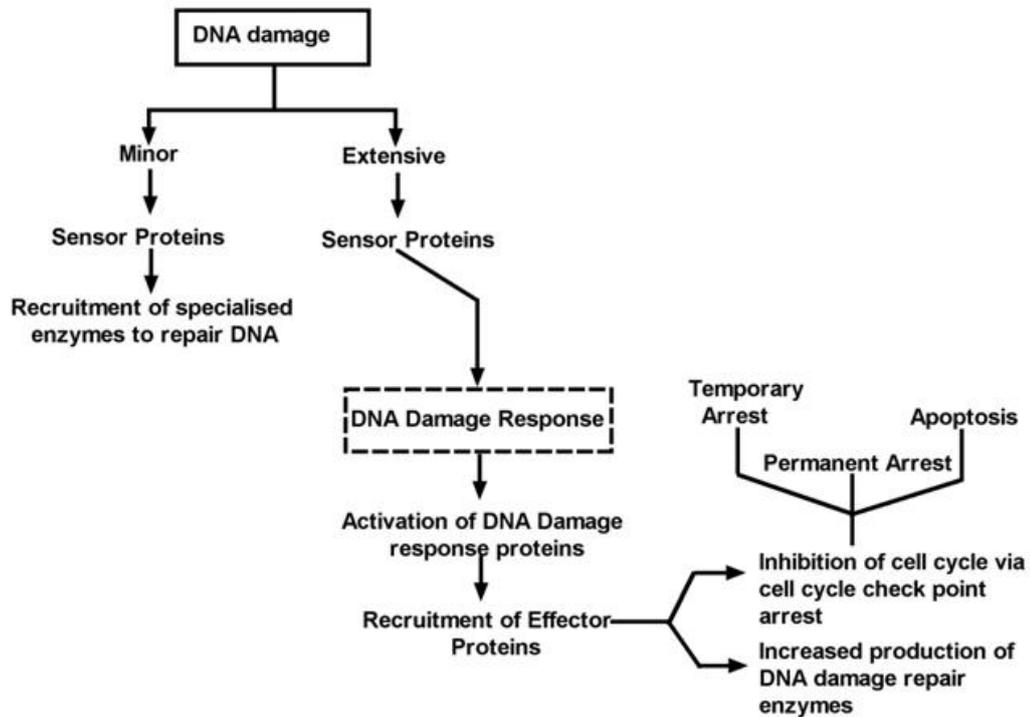
2.2 Regulasi proliferasi dan apoptosis sel

2.2.1 Kerusakan DNA

Untuk kelangsungan hidup dan fungsi normal sel dan pada akhirnya seluruh organisme, konservasi dan perlindungan urutan dan struktur DNA asli diperlukan. Namun, tubuh kita terus-menerus terkena beragam jenis paparan genotoksik dari berbagai sumber yang dapat merusak DNA. Dalam rangka mempertahankan integritas genomik, sel-sel memiliki mekanisme penginderaan dan perbaikan DNA sebagai respon adanya kerusakan DNA dan menjamin kelangsungan hidup.⁴⁶

Kerusakan DNA yang terjadi akibat stimulus kimia, radikal bebas, atau radiasi yang berasal dari paparan lingkungan, produk sampingan metabolisme intraseluler, atau terapi medis. Kerusakan DNA dapat terbatas pada perubahan susunan basa atau ekstensif seperti kerusakan pada *double-strand*. Protein nukleus mendeteksi kerusakan DNA dan memulai perlekatan kompleks protein pada lokasi lesi. Selanjutnya, sinyal transduser, mediator, dan protein efektor target terfosforilasi (misalnya, p53) akan menyebabkan berhentinya siklus sel pada fase G1/ S, intra-S, atau G2/ M sampai dilakukan proses perbaikan DNA. Gangguan yang terjadi pada fase berhentinya siklus sel pada DNA yang rusak pada masing-masing *checkpoint* ini berhubungan dengan ketidakstabilan genom dan onkogenesis. Ketika perbaikan DNA berhasil, siklus sel dapat dilanjutkan. Namun jika perbaikan tidak berhasil (misalnya, dengan dosis tinggi agen perusak

DNA atau cacat genetik pada mesin perbaikan DNA), maka hal ini dapat menyebabkan berhentinya siklus sel secara permanen (*senescence*), apoptosis atau onkogenesis.⁴⁷ Berikut ini merupakan bagan yang menjelaskan jalur yang terjadi sebagai respon kerusakan DNA:



Gambar 2.12 Respon seluler terhadap kerusakan DNA

2.2.2 Jalur pRB

Fungsi yang paling utama dari protein retinoblastoma (pRB) adalah untuk mengontrol progresi siklus sel dengan berinteraksi dan menghambat faktor transkripsi famili E2F, yang mengatur ekspresi gen yang diperlukan untuk proliferasi sel. Afinitas pRB terhadap E2Fs (E2F-1, -2, -3a, -3b) bergantung pada status fosforilasinya, yang dimodulasi oleh *cyclin* dan *cyclin-dependent kinase* (CDK). Adanya sinyal proliferasi, terjadi peningkatan aktivitas kompleks cyclin-CDK yang selanjutnya memfosforilasi pRB, yang menyebabkan disosiasi E2Fs dari pRB. Akibatnya, E2Fs mengaktifkan target transkripsional, sehingga masuk ke dalam siklus sel dan menginduksi pembelahan sel. Mengingat peran penting dari pRB dalam kontrol siklus sel, mutasi RB1 menyebabkan sel pada kapasitas untuk memasuki siklus sel dan membelah secara tidak tepat, atau memungkinkan sel-sel yang ditakdirkan untuk keluar siklus tetap berproliferasi.⁴⁸

2.2.3 Jalur p53

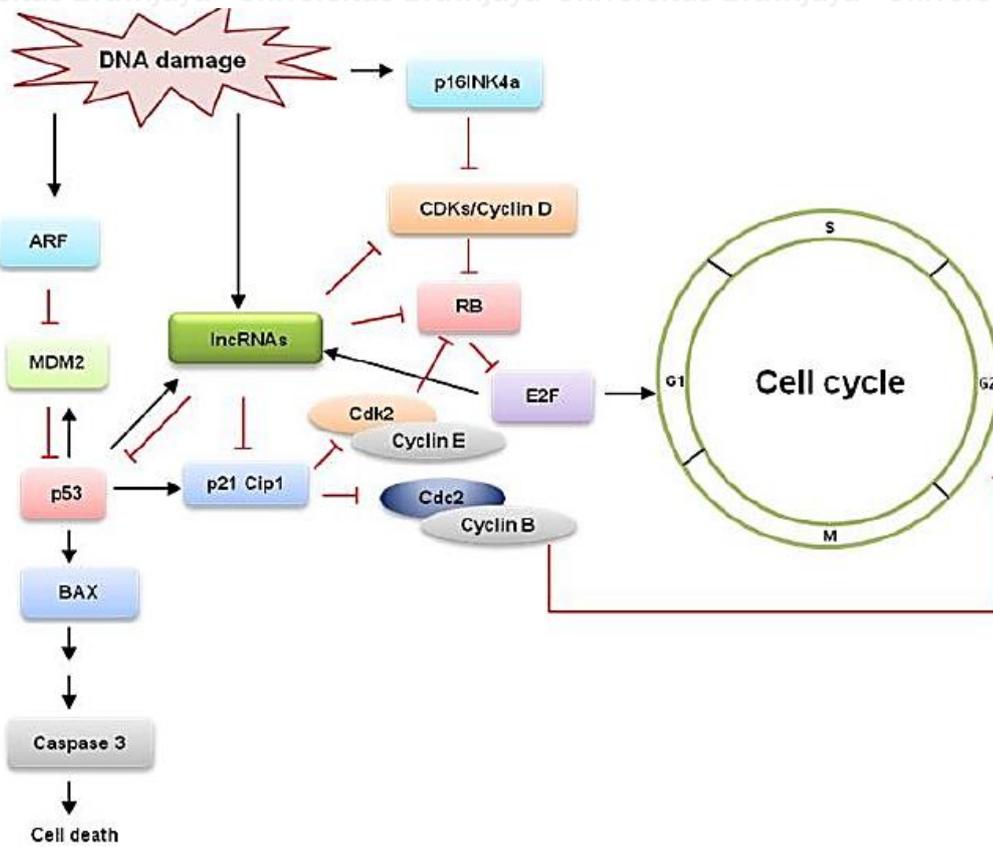
Protein 53 (p53) merupakan *tumor-suppressor gene* yang berfungsi dalam mengontrol siklus sel dan apoptosis. Dalam keadaan adanya stress, kerusakan DNA atau sinyal onkogenik akan menginduksi ARF. ARF akan memecah MDM2 yang selanjutnya memfasilitasi degradasi dan aktivasi p53. Protein p53 memiliki efek baik aktivasi maupun inhibisi sehingga dapat mengontrol transkripsi beberapa gen. Aktivasi gen WAF1 dan inhibisi CDKs akan menyebabkan terhentinya siklus sel. Sedangkan aktivasi protein BAX akan menyebabkan apoptosis sel. Pada retinoblastoma disebutkan terjadi terjadi inaktivasi jalur p53, meskipun tidak ditemukan mutasi gen penyandi protein 53 (TP53). Disregulasi ini dilaporkan karena peningkatan protein MDM4 dan MDM2 pada 63% dan 10% pasien retinoblastoma. Kedua protein tersebut berperan dalam inhibisi jalur aktivasi p53 sehingga bila jumlahnya meningkat maka akan terjadi inaktivasi jalur p53.⁷

2.2.4 Interaksi pRB dan p53

Studi in vitro dan in vivo menunjukkan bahwa ARF penting dalam menyampaikan sinyal yang diprakarsai oleh inaktivasi pRB untuk memicu perkembangan tumor yang dimediasi oleh p53. Konsekuensi langsung dari inaktivasi pRB adalah derepresi faktor transkripsi E2F1, yang dalam konteks tertentu, mampu menginduksi transkripsi ARF. E2F1 mengatur ARF melalui elemen responsif E2F baru yang berbeda dari lokasi E2F pada umumnya. Elemen ini merespon aktivitas E2F1 yang menyimpang yang dihasilkan dari inaktivasi pRB atau ekspresi ektopik E2F1, tetapi tidak pada fluktuasi fisiologis normal E2F1 selama siklus sel. Oleh karena itu pada saat inaktivasi pRB, aktivitas E2F1 yang menyimpang dapat mengaktifkan ARF, yang pada gilirannya mengaktifkan p53 untuk menekan tumorigenesis. Supresi tumor yang dimediasi oleh ARF ditunjukkan pada model tumor hipofisis tikus yang diprakarsai oleh mutasi RB, di mana ARB diaktifkan saat inaktivasi RB.⁴

Teori lain menyebutkan bahwa jalur penekan tumor p53 dan retinoblastoma (RB) mengendalikan respons kerusakan DNA. p16INK4a dan p14ARF mengontrol aktivitas RB dan p53. RB menginduksi berhentinya siklus sel di G1 dan mengatur masuk ke fase S dengan menghambat E2Fs. p53 memediasi beberapa efek, termasuk menyebabkan G1 dan G2 menangkap dan mempromosikan apoptosis. Hilangnya fungsi p53 juga mendorong

ketidakstabilan genomic.⁵ Berikut ini gambar yang menjelaskan interaksi antara pRB dan p53 dalam regulasi siklus sel dan apoptosis:



Gambar 2.13 Interaksi p53 dan RB1 dalam regulasi proliferasi dan apoptosis.⁵

2.3 Ciplukan (*Physalis angulata L.*)

2.3.1 Deskripsi

Ciplukan (*Physalis angulata L.*) merupakan tumbuhan semak yang tumbuh musiman dan tergolong sebagai tanaman liar. Ciplukan ditemukan di sebagian besar daerah tropis termasuk Afrika, Asia dan Amerika yang tersebar luas di wilayah lahan kosong dengan tanah yang lembab. Di Indonesia, pulau Jawa merupakan pulau yang dapat ditumbuhi secara liar oleh ciplukan baik di kebun, tepi jalan, semak dan tepi hutan. Ketinggian tanah yang baik untuk mendukung pertumbuhan ciplukan adalah sekitar 1 – 1.550 m di atas permukaan laut. Ciplukan di Indonesia semula hanya dianggap sebagai tanaman liar dan kurang memiliki nilai guna. Sedangkan di Perancis, ciplukan merupakan buah eksklusif yang banyak dikonsumsi. Bangsa lain yang juga memanfaatkan ciplukan adalah Amerika, Kanada, Korea Selatan, dan Taiwan. Selain ciplukan

dimakan sebagai buah segar, tanaman ini juga digunakan sebagai bahan untuk terapi alternatif terapi beberapa jenis penyakit.⁴⁹

2.3.2 Morfologi

Ciplukan tumbuh tegak dengan tinggi 0,1-1 m. Batang pokoknya tidak jelas, percabangan menggarpu, bersegi tajam, berusuk, berongga, bagian yang hijau berambut pendek. Tanaman ini memiliki 2 bentuk yaitu bentuk berdaun tipis dengan permukaan datar, berbulu, dan tepi daun bergerigi, sedangkan bentuk yang lain berdaun agak tebal dengan permukaan tidak rata, berbulu, dan tepi daun bergelombang. Akar ciplukan berbentuk bulat, tumbuh memanjang, berwarna putih, dan rasanya pahit. Akar yang berasal biji berupa akar cabang, serabut, atau akar tunggang di mana akar tunggang ini tidak ditemukan pada kebanyakan vegetatif.⁵⁰

Batang ciplukan berwarna hijau dan lembayung, berdiri tegak yang selanjutnya dapat membentuk percabangan ke samping bahkan bisa mendatar menyentuh tanah, serta batang bawah berbentuk bulat dengan alur kecoklatan. Daun ciplukan tipis, lemas, berbulu lebat, dan cepat layu setelah dipetik. Daun pertama sampai kelima dari tanaman generatif berbentuk oval, urat jelas, dan tepi belum berleku sedangkan daun-daun berikutnya sudah berleku. Panjang tangkai 2-3 cm, bersegi, dan berwarna hijau.⁵⁰

Bunga ciplukan berbentuk tunggal. Kelopak bunga menyerupai terompet berbulu, berwarna lembayung, dan dengan ujung bercelah 5. Mahkota berbentuk lonceng, berwarna kuning, lebar lebih dari 1 cm, bagian tepi sedikit berleku, dan di dalam leher terdapat noda kecoklatan yang dibawahnya ditumbuhi rambut kelompok seperti huruf M gemuk. Tangkai sari berjumlah 4, kurang dari 1 cm, berwarna kebiru-biruan dengan ujungnya kuning kehitaman. Tangkai putik kebiru-biruan dengan kepala putik gundul kebiru-biruan. Buah ciplukan sebesar kelereng, berkulit tipis dan licin. Panjang buah 15-20 mm dengan diameter 1.5 cm. Biji bertekstur keras, panjang kurang dari 1mm, dan berwarna coklat muda. Satu buah ciplukan dapat mengandung 150 biji.⁵⁰

Berikut ini gambar morfologi tanaman ciplukan:



Gambar 2.14 Morfologi Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* L.) a. Bunga, b. Buah, c. Daun, d. Batang⁴⁹

2.3.3 Taksonomi

Taksonomi ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam ITIS (*Integrated Taxonomic Information System*) adalah sebagai berikut :⁴⁹

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>
Genus	: <i>Physalis</i>
Spesies	: <i>Physalis angulata</i> L

2.3.4 Kandungan Kimia

Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ciplukan antara lain alkaloid, flavonoid dan beberapa jenis steroid tanaman. Komponen zat aktif utama dalam ciplukan antara lain:

a. *Physalins*

Physalins merupakan steroid yang berasal dari *Physalis* atau genus yang dekat, yang termasuk ke dalam famili *Solanaceae*. *Physalins* secara biologis berkaitan erat dengan *withanolides*.⁵¹ Dari batang dan daun *P. angulata* telah

berhasil diisolasi 5 jenis physalins baru yaitu physalins E, F, H, I dan K, selain physalins B, G dan D yang telah ditemukan sebelumnya. Physalins U dan V serta komponen steroid tipe ergostane yang lain berhasil diisolasi dari ekstrak metanol daun *P. angulata*.⁵²

Akumulasi suatu zat physalin dapat ditemukan pada jaringan utuh dari ciplukan. Total, ada 6 jenis physalin yang bisa di temukan dari ekstrak tanaman physalis, yaitu physalin A, B, D, F, J dan N. Kandungan physalin terbanyak dapat ditemukan di bagian bunga dan daunnya.⁵³

b. *Withanolides*

Withanolides adalah kelompok steroid yang berasal dari kerangka ergostane, dimana rantai C-22 dan C-26 mengalami oksidasi untuk membentuk cincin δ -lactone. Komponen ini spesifik untuk famili Solanaceae Beberapa withanolides baru yaitu *physagulin* A, B, C dan D diperoleh dari ekstrak metanol daun segar dan batang *P. angulata*.⁵² Penelitian lain yang dilakukan oleh He *et al.* (2007) melaporkan isolasi dan elusidasi sebelas *withanolides* dari ekstrak *P. angulata* yaitu *physagulins* L, M, N dan O, *withangulatin* A, *physagulin* K, *withaminimin*, *physagulin* J, *physagulin* B, *pubesenolide* dan *physagulin* D. Hingga saat ini aktivitas *withanolides* yang telah dibuktikan antara lain antikanker, antikonvulsan, immunosuppresan dan antioksidan.⁵⁴

c. *Luteolin*

Selain *physalin* dan *withanolides*, daun ciplukan juga mengandung luteolin yang merupakan glikosida flavonoid, senyawa turunan dari flavones. Luteolin diduga berperan penting pada tubuh manusia sebagai antioksidan, *free radical scavenger*, agen pencegah inflamasi, promotor metabolisme karbohidrat, dan modulator sistem imun. Beberapa eksperimen penelitian menjelaskan luteolin sebagai agen biokimia yang secara signifikan menurunkan inflamasi dan memiliki aktivitas antikanker.⁵²

d. *Carotenoids*

Sebanyak 22 jenis *carotenoid* yang berasal dari buah *P.angulata* berhasil diidentifikasi dengan metode HPLC-PDA-MS/MS. Sebagian besar *carotenoid* merupakan *all-trans-caroten* yaitu sekitar 62,2%, kemudian *9-cis-carotene* sebesar 2,9% dan *all-trans-cryptoxanthin* sebesar 2,7%. Bebeapa penelitian telah membuktikan bahwa terdapat korelasi positif antara konsumsi sayur dan buah yang mengandung *carotenoid* dan penyakit kronis degeneratif seperti

kanker, inflamasi, penyakit kardiovaskular, katarak dan penyakit makula degeneratif.⁵⁵

2.3.5 Potensi *Physalis angulata L* sebagai Antikanker

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa daun ciplukan memiliki aktivitas anti kanker. Penelitian Chiang *et al.* pada tahun 1992 telah menyatakan bahwa ekstrak etanol tanaman utuh *P. angulata* memiliki aktivitas sitotoksik in vitro pada beberapa *cell line* manusia yaitu: HA22T (hepatoma), HeLa (kanker serviks), KB (Nasopharing), Colo 205 (colon) dan Calu (paru). Sedang pada hewan coba, tanaman tersebut memiliki aktivitas sitotoksik in vitro terhadap H1477 (melanoma), Hep-2 (laryngeal) dan 8401(glioma) dan memiliki efek anti tumor melawan P388 limpositik leukemia pada tikus secara in vivo.⁵⁶

Pada penelitian yang lain, ciplukan memiliki aktivitas antihepatoma pada sel hepatoma manusia Hep G2, Hep 3B dan PLC/PRF/5. Pada penelitian selanjutnya, didapatkan hasil bahwa *Physalis angulata* berperan dalam regulasi proliferasi, siklus sel dan apoptosis sel kanker payudara MDA-MB 231. *Physalis angulata* menghentikan sel kanker tersebut pada fase G2/M melalui penurunan level cyclin A / cyclin B, dan meningkatkan level p21waf1/cip1, p27kip1 dan Chk2 pada fase G2/M dimana terjadi peningkatan fosforilasi Cdc25C dan menginduksi penekanan level Cdc2 serta meningkatkan level Wee1. Berdasarkan data diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol ciplukan memiliki efek antiproliferasi dan sitotoksik.¹⁵

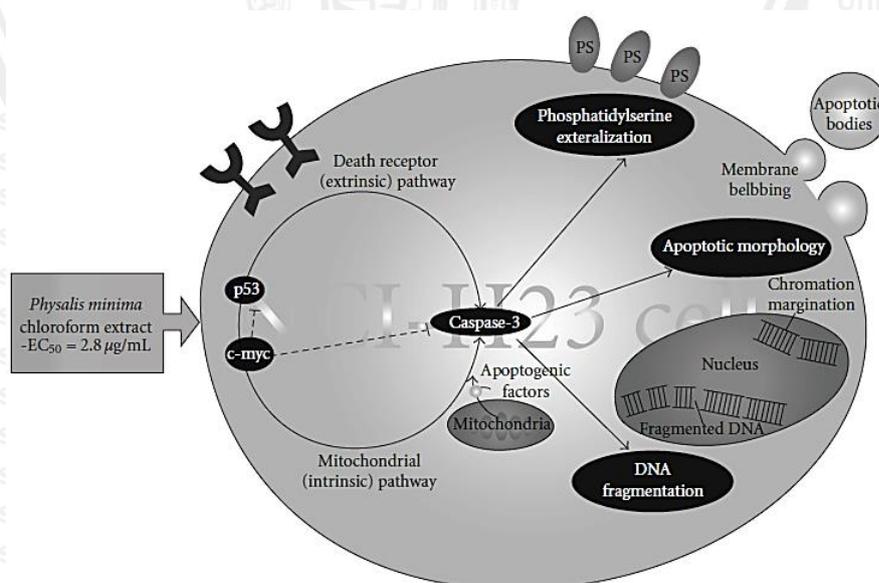
Darma *et al.* (2010) dalam penelitiannya melaporkan bahwa ciplukan memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker rahim melalui modulasi ekspresi dari p53 sehingga menyebabkan terhentinya proliferasi sel.¹⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Ooi pada tahun 2010 melaporkan bahwa pemberian ekstrak *P. angulata*. dapat menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara T-47D manusia melalui jalur c-myc-, p53-, dan caspase-3-dependent.⁵⁷

Hal ini sejalan dengan penelitian Handayani pada tahun 2012 dimana ekstrak etanol *P. angulata* dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menurunkan ekspresi protein c-Myc, meningkatkan protein p53 liar dan ekspresi protein Apaf-1, menurunkan jumlah mitosis dan meningkatkan jumlah apoptosis.¹⁶

Penelitian yang dilakukan oleh Hseu *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak etil asetat *P. angulata* menyebabkan inhibisi terhadap beberapa tahapan

metastase, termasuk migrasi dan invasi *human oral squamous carcinoma cells* (HSC-3).¹⁷ He et al. (2007) juga melaporkan aktivitas sitotoksik dari 11 jenis whitaniolides yang diisolasi dari ekstrak metanol *P. angulata* pada sel kanker NCI-H460 (lung) dan HCT-116 (colon). Withangulatin A disebutkan memiliki potensi antikanker paling tinggi pada cell line HCT-116 dengan nilai IC₅₀ 1.64±0.06 M, sedangkan physagulin B menghasilkan toksisitas paling tinggi terhadap cell line NCI-H460 dengan nilai IC₅₀ 0.43 ± 0.02 M.⁵⁴

Mekanisme antikanker ini diduga karena ekstrak *P. angulata* dapat menginduksi berhentinya siklus sel dalam fase G2/M.⁵⁵ Selain itu menurut Wu et al. (2012) dalam penelitiannya melaporkan bahwa *Physalin F* menginduksi apoptosis sel melalui jalur mitokondria yang diperantarai oleh ROS serta menekan aktivasi NF-κB pada sel kanker renal manusia A498.⁵⁹ Penelitian yang dilakukan oleh Leong et al. (2011) berhasil membuktikan efek sitotoksik dan mekanisme apoptosis sel kanker paru NCI-H23 yang diinduksi *Physalis angulata* L. Mekanisme apoptosis diperantarai oleh aktivasi p53, caspase-3 dan c-myc yang merupakan protein regulator utama baik pada jalur intrinsik maupun ekstrinsik. Hal ini selanjutnya akan menghasilkan beberapa efek biologis antara lain gangguan morfologi dan biokimia sel, termasuk fragmentasi DNA, eksternalisasi phosphatidylserine, migrasi kromatin, membran blebbing dan *apoptotic bodies*.⁶⁰ Berikut ini gambar skematis yang menjelaskan mekanisme kerja *Physalin* dalam aktivasi p53 :



Gambar 2.15 Mekanisme apoptosis sel kanker paru (NCI-H23) oleh ekstrak kloroform *Physalis angulata* L.⁶⁰