

Potensi Pemanfaatan Kandungan *Tocotrienol-Rich Fraction* (TRF) dalam *Crude Palm Oil* (CPO) berbasis Nanopartikel *Poly (Ethylene Glycol)-b-Poly (D,L-Lactic Acid-co-Glycolic Acid)-b-Poly (Ethylene Glycol)* (PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG) sebagai Kemoterapi pada Kanker Serviks

Fadel Muhammad Ikrom¹, Yulia Cahya Khasanah¹, dan Hanifah Hanum¹

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Indonesia merupakan peringkat dua dalam jumlah kasus kanker serviks di dunia. Terjadi 21 ribu kasus kanker serviks dan lebih dari sembilan ribu wanita di Indonesia meninggal karena kanker serviks. Saat ini, kemoterapi yang sering digunakan dalam penanganan kanker serviks adalah terapi kombinasi obat golongan sitotoksik cisplatin dan fluorouracil. Akan tetapi, golongan obat tersebut mempunyai efek toksisitas yang tinggi. Berdasarkan fakta tersebut, perlu dilakukan suatu inovasi kemoterapi yang memiliki efek toksisitas yang lebih rendah yaitu dengan pemanfaatan bahan alam berupa *Tocotrienol-Rich Fraction* (TRF) yang berasal dari *Crude Palm Oil* (CPO) sebagai kemoterapi pada kanker serviks TRF bekerja dengan cara mempengaruhi beberapa *signaling pathways* pada sel kanker, dan memperantarai beberapa mekanisme sel termasuk reduksi kerusakan DNA, aktivasi apoptosis, induksi penghentian siklus sel, stabilisasi proteasome, dan aktivasi telomerase. TRF memiliki kelemahan yaitu bioavailabilitas yang rendah disebabkan rendahnya afinitasnya terhadap protein plasma pembawa yang menyebabkan banyaknya kadar obat bebas di sirkulasi. Untuk itu diperlukan suatu *drug delivery carrier* yang dapat meningkatkan bioavailabilitas dan sensitivitas TRF. *Drug delivery carrier* yang telah diketahui memiliki keuntungan ialah penggunaan kombinasi nanopartikel tri blok *copolymer* PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG. Aplikasi nanopartikel tri blok *copolymer* PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG berhasil meningkatkan bioavailabilitas dan waktu paruh terhadap modalitas yang terkandung didalamnya.

Kata kunci: *Crude Palm Oil*, Kanker Serviks, PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG, *Tocotrienol-Rich Fraction*

Potential Utilization of *Tocotrienol-Rich Fraction* (TRF) in *Crude Palm Oil* (CPO) based on Nanoparticles *Poly (Ethylene Glycol) -b-Poly (D, L-Lactic Acid-co-Glycolic Acid) -b-Poly (Ethylene Glycol)* (PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG) as Chemotherapy on Cervical Cancer

Abstract

Indonesia is ranked second in the number of cervical cancer cases in the world. 21 thousand cases of cervical cancer occur and more than nine thousand women in Indonesia die of cervical cancer. At present, chemotherapy that is often used in the treatment of cervical cancer is a combination therapy of cisplatin and fluorouracil cytotoxic drugs. However, this class of drugs has a high toxicity effect. Based on these facts, it is necessary to do an chemotherapy innovation that has a lower toxicity effect, namely by utilizing natural ingredients in the form of *Tocotrienol-Rich Fraction* (TRF) derived from *Crude Palm Oil* (CPO) as chemotherapy in TRF cervical cancer by influencing some signaling pathways in cancer cells, and mediating several cell mechanisms including reduction of DNA damage, apoptotic activation, induction of cell cycle cessation, proteasome stabilization, and telomerase activation. TRF has a weakness that is low bioavailability due to its low affinity for carrier plasma proteins which causes a large number of free drug levels in the circulation. For this reason, a drug delivery carrier is needed that can increase the bioavailability and sensitivity of TRF. Drug delivery carriers that have been known to have advantages are the use of a combination of PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG tri block copolymer nanoparticles. The application of PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG tri-block copolymer nanoparticles has been successful in increasing bioavailability and half-life of the modalities.

Keywords: Cervical Cancer, *Crude Palm Oil*, PEG-*b*-PLGA-*b*-PEG, *Tocotrienol-Rich Fraction*

Korespondensi: Fadel Muhammad Ikrom alamat Jl. Swadaya no 39 Pakjo Palembang, HP 085758579945 , e-mail fadelfmi@gmail.com

Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia. Pada tahun 2018, sekitar 9,6 juta orang di dunia meninggal disebabkan oleh kanker. Indonesia merupakan peringkat dua dalam jumlah kasus kanker

serviks di dunia. Terjadi 21 ribu kasus kanker serviks dan lebih dari sembilan ribu wanita di Indonesia meninggal karena kanker serviks.¹

Hingga saat ini, terdapat tiga penanganan pada kanker serviks yaitu pembedahan, radioterapi dan kemoterapi.

Kemoterapi yang sering digunakan adalah kombinasi terapi obat golongan sitotoksik. Golongan obat ini menghambat transkripsi dan atau replikasi DNA, serta menginduksi proses apoptosis. Akan tetapi, golongan obat ini mempunyai efek toksisitas yang tidak spesifik terhadap sel target sehingga dapat menimbulkan efek samping seperti toksisitas pada sistem saraf dan ginjal serta supresi sum-sum tulang.²

Tocotrienol-Rich Fraction (TRF) adalah suatu senyawa aktif yang terkandung dalam CPO, suatu produk olahan yang sangat diminati oleh masyarakat dunia yang dihasilkan dari buah kelapa sawit (*Elaeis guineensis*).³ TRF merupakan derivat vitamin E yang terdiri dari α -, β -, δ -, dan γ -*tocotrienol* yang berfungsi sebagai zat antikanker dengan berbagai mekanisme seperti antiangiogenesis, antiproliferasi, induksi apoptosis dan *imunostimulant*.⁴ Berbeda dengan kemoterapi kanker pada umumnya, TRF memiliki efek samping yang sangat sedikit bahkan mempunyai efek positif terhadap sistem saraf, ginjal dan tulang, yang pada kemoterapi kanker pada umumnya justru menimbulkan efek negatif.⁵

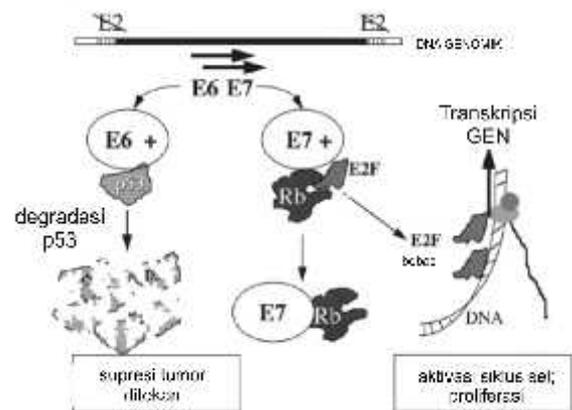
Isi

Banyak faktor penyebab terjadinya kanker serviks, baik internal maupun eksternal. Faktor internal terjadi pada gen yang berperan dalam siklus sel. Hal tersebut menjadi pusat perhatian dalam hubungannya dengan proses terjadinya pertumbuhan tumor. Terdapat dua golongan gen, gen pertama adalah kelompok pemicu terjadinya tumor yang disebut tumor *oncogenes*, seperti gen *c-myc* dan gen *ras*. Kedua gen tersebut merupakan kelompok penekan terjadinya tumor yang disebut gen tumor suppressor, seperti gen *p53* dan *Rb*.⁶

Faktor penyebab dari kanker serviks ini adalah infeksi HPV. Sedangkan faktor risikonya adalah melakukan aktivitas seksual pada usia yang muda, *multiple sexual partners*, penderita penyakit seksual, merokok, menggunakan kontrasepsi oral, terinfeksi *Human immunodeficiency virus* (HIV), menggunakan terapi obat immunosuppressive, kerusakan dari sistem imun dan faktor hormonal. Beberapa penelitian menjelaskan

bahwa faktor genetik memiliki peranan yang kecil dalam terjadinya kanker serviks⁶

Protein E6 (*onco-protein*) mempunyai peran dalam proliferasi sel yang dihubungkan dengan keberadaan gen *tumor suppressor p53* yang mengakibatkan inaktivasi gen tersebut. Penurunan kadar gen *p53* dalam sel akan berakibat pada kegagalan pengendalian pertumbuhan sel. Protein E7 (*onco-protein*) mempunyai peran dalam proliferasi sel dengan cara mengikat gen *tumor suppressor Rb*. Ikatan tersebut menyebabkan tidak terikatnya gen E2F (faktor transkripsi) oleh protein Rb sehingga gen E2F menjadi aktif dan menstimulasi *c-myc* (faktor transkripsi) untuk mereplikasi DNA dan menstimuli siklus sel.⁷ Hal tersebut dapat dilihat pada gambar.



Gambar 1. Proses pengaruh protein E6 dan E7 pada HPV terhadap perubahan yang terjadi pada sel.⁷

Hasil pengekspresian protein E6 dan E7 dari regulasi siklus sel normal yang terganggu dapat menghambat mekanisme apoptosis dan ketidakstabilan genetik. Ketidakstabilan genetik merupakan karakteristik suatu neoplasma ganas yang awal terjadinya dalam bentuk prekanker, sehingga memungkinkan terjadi langkah tambahan dari beberapa mutasi. Ketidakstabilan genetik tersebut diproduksi oleh perubahan dalam perangkat spindel mitosis yaitu peristiwa mitosis yang dapat menghasilkan ketidakseimbangan dalam distribusi kromosom, yang menyebabkan perubahan dalam jumlah dan struktur kromosom. Sehingga hal tersebut dapat menghasilkan perubahan dalam isi dari keseluruhan DNA, yang disebut sebagai aneuploidi. Ketidakstabilan genetik memiliki

peranan penting dalam pengembangan kanker.^{8,9}

Minyak sawit secara alami merupakan sumber vitamin E yang potensial, terutama dalam bentuk *tocopherols* dan *tocotrienol*. Komponen ini merupakan zat penting dalam diet yang berfungsi sebagai antioksidan, yaitu senyawa yang mencegah oksidasi. Radikal bebas secara alami terdapat di dalam tubuh sebagai hasil metabolisme normal. Kandungan radikal bebas dapat meningkat pada kondisi stress dan kerja keras. Selain itu, radikal bebas dapat berasal dari polutan dan makanan. Radikal bebas ini berperan sebagai oksidan yang kuat bagi komponen asam-asam lemak pada membran sel. Kerusakan yang terjadi disebut sebagai kerusakan oksidatif, bisa menyebabkan penyimpangan pada fungsi sel. *Tocopherols* dan *tocotrienol* dari minyak sawit dapat berperan sebagai antioksidan alami, menangkap radikal bebas, karenanya berperan melindungi sel-sel dari proses kerusakan. Telah banyak penelitian dilakukan untuk membuktikan bahwa *tocopherols* dan *tocotrienol* bisa melindungi sel-sel dari proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti *atherosclerosis* dan kanker.¹⁰

Vitamin E merupakan bentuk umum yang terbagi menjadi dua subgrup yaitu *tocopherol* dan *tocotrienol*. Terdapat beberapa bentuk dari *tocopherol* (α -, β -, δ -, dan γ -) dan α -, β -, δ -, γ - *tocotrienol*.¹⁰

Tocotrienol Rich Fraction (TRF) adalah suatu derivat vitamin E yang terdiri dari *tocopherols* (α -, β -, δ -, dan γ -) dan α -, β -, δ -, γ - *tocotrienol*. TRF terdiri dari 70% *tocotrienol* (113mg α -*tocotrienol*/g, 91 mg γ -*tocotrienol*, 36 mg δ -*tocotrienol*, 10 mg β -*tocotrienol*) dan 30% *tocopherols* (78 mg α -*tocopherols*, 0,5 mg β -*tocopherols*) yang diperoleh dari minyak kelapa sawit setelah melalui proses esterifikasi dan distilasi, kristalisasi dan kromatografi. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa *tocotrienols* memiliki efek secara langsung dalam menghambat pertumbuhan sel untuk mengalami proses apoptosis, tetapi tidak untuk *tocopherols*.^{11,12}

Tocotrienol-Rich Fraction (TRF) bekerja dengan cara mempengaruhi beberapa signaling pathways pada sel kanker, dan memperantarai beberapa mekanisme sel termasuk reduksi kerusakan DNA, aktivasi apoptosis, induksi

penghentian siklus sel, stabilisasi proteasome, dan aktivasi telomerase. TRF memiliki kemampuan untuk menekan *cyclin D* sehingga menyebabkan terhambatnya siklus sel, menstimulasi proses apoptosis secara langsung melalui mediasi jalur mitokondria, menekan aktivitas HMG CoA reduktase yang dibutuhkan sel kanker untuk berproliferasi, serta dapat menurunkan ekspresi onkogen dan meningkatkan jumlah dari *tumor suppressor genes*. Aktivasi proses apoptosis oleh TRF memiliki tiga cara, melibatkan protein yang terkait dengan *mitochondrial stress* seperti *Bcl-family protein* dan *caspase*, mekanisme *death receptor*, serta menginduksi proses autofag melalui *mitochondrial permeability transition pore opening-dependent*. Induksi dari *death receptors* dan aktivasi dari *caspase-8* akan memicu aktivasi *caspase-3* yang pada akhirnya mengaktivasi gen p53 untuk melakukan apoptosis.¹³

Selain kemampuannya sebagai antikanker dengan melakukan proses apoptosis, TRF juga berperan dalam mekanisme penting lainnya yaitu; aktivasi antiproliferasi dengan menekan aktivitas HMG CoA reduktase, menghambat invasi dan metastasis sel kanker dengan menurunkan ekspresi onkogen serta meningkatkan jumlah dari *tumor suppressor genes*. Supresi angiogenesis dari TRF diperantarai melalui penghambatan ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *VEGF receptor signaling*.¹³

TRF memiliki waktu paruh yang pendek dan bioavailabilitas yang rendah. Sehingga, tidak adanya peningkatan level *tocotrienol* didalam plasma. Beberapa penelitian pada tikus telah menunjukkan bahwa ada penumpukan TRF pada jaringan, khususnya jaringan adiposa. Berdasarkan analisis dengan *flow-cyometry* menunjukkan bahwa TRF memiliki efek yang baik pada jumlah sel darah putih (Limfosit, sel T, sel T helper, CD8, sel B, *Natural Killer Cells*). Selain itu, TRF dapat meningkatkan proliferasi dari sel T, sel T-Helper, seperti CD4 dan CD8. Tetapi pendapat lain menjelaskan bahwa peningkatan tersebut terjadi pada usia lanjut. Analisis lain dengan menggunakan Split-plot ANOVA menunjukkan bahwa sitokin memiliki efek yang kuat, termasuk konsentrasinya.¹⁴

Dibalik potensi yang dimilikinya sebagai antiangiogenesis, antiproliferasi, induksi apoptosis dan meningkatkan fungsi imunologi, TRF memiliki kelemahan dalam pendistribusiannya. Hal ini terkait dengan waktu paruh plasma yang pendek sehingga membutuhkan dosis yang sangat tinggi untuk mencapai dosis terapeutik. Waktu paruh yang singkat ini berhubungan dengan afinitas yang rendah terhadap transfer protein sehingga meningkatkan kadar obat bebas di dalam darah sehingga diperlukan suatu *drug delivery carrier*.¹⁴

Penggunaan polimer *Poly Lactic Acid-co-Glycolic Acid* (PLGA) telah menunjukkan potensial yang sangat besar sebagai *drug delivery carrier*.¹⁵ Karakteristik waktu paruh yang panjang dan keamanan penggunaannya dalam waktu jangka panjang menjadikannya salah satu polimer yang sering digunakan dalam berbagai pengalaman klinis. Akan tetapi, penggunaan nanopartikel PLGA secara tunggal masih memiliki kelemahan yaitu memiliki indeks polidispersitas yang tinggi dan tingkat stabilitas yang rendah, sehingga mudah didegradasi oleh sistem sirkulasi, mudah ditangkap oleh protein serum, mudah dirusak oleh degradasi nuklease, mudah mengalami agregasi, tidak dapat dilapisi dengan antibodi monoklonal, dan sulit untuk diinternalisasikan.¹⁶

Untuk mengatasi kekurangan tersebut dapat dilakukan dengan mengkombinasikan nanopartikel PLGA dengan *poly ethylene glycolic* (PEG) yang akan menghasilkan nanopartikel triblok kopolimer (PEG-b-PLGA-b-PEG).¹⁷

Kombinasi PLGA dan PEG dapat menghindari degradasi nuklease dan mudah diinternalisasikan ke dalam sel dan menghindari degradasi sirkulasi didalam tubuh serta meningkatkan waktu paruh.¹⁶ Sehingga efektivitas TRF dapat meningkat dikarenakan peningkatan afinitas dan hal ini memungkinkan karena pada metode kombinasi ini PEG digunakan sebagai barrier dan penyetabil bentuk nanopartikel.¹⁴ Sehingga dapat menghasilkan suatu bentuk hydrogel yang bersifat lipofilik dan memiliki waktu paruh yang memadai. Hal ini sangat berpengaruh terhadap afinitas dan stabilitas TRF sehingga efek terapeutik yang diharapkan dapat tercapai.¹⁷

Simpulan

Mekanisme kerja *Tocotrienol-Rich Fraction* (TRF) sebagai kemoterapi pada kanker serviks adalah dengan cara mempengaruhi death cell signaling pathways. TRF juga memperlancar beberapa mekanisme sel termasuk reduksi kerusakan DNA, induksi penghentian siklus sel, stabilisasi proteasome, dan pengaturan aktivasi telomerase.

Di balik potensi yang dimilikinya sebagai antiangiogenesis, antiproliferasi, induksi apoptosis dan meningkatkan fungsi imunologi, TRF memiliki kelemahan dalam pendistribusiannya. Hal ini terkait dengan waktu paruh plasma yang pendek sehingga membutuhkan dosis yang sangat tinggi untuk mencapai dosis terapeutik. Oleh karena itu, diperlukanlah suatu *drug delivery carrier* sebagai upaya meningkatkan stabilitas dan afinitas TRF tanpa mengurangi efektivitasnya. Diantara berbagai *drug delivery carrier*, penggunaan polimer *Poly Lactic Acid-co-Glycolic Acid* (PLGA) telah menunjukkan potensial yang sangat besar sebagai *drug delivery carrier*.¹⁶

Daftar Pustaka

1. World Health Organization. Fact sheet: cancer. United Nations: World Health Organization; 2018.
2. Florea A, Busselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *J Cancers*. 2011; 3(1):1351-1371.
3. Gabungan Pengusaha Kelapa Sawit Indonesia. Indonesian palm oil: healthy oil, healthy life [Internet]. Jakarta: GAPKI; 2015 [disitasi tanggal 21 April 2015]. Tersedia dari <http://www.gapki.or.id/Page/NewsDetail?guid=4e129d80-ed35-477a-9f3d-bae8efa09c83>.
4. Arbyn M, Castellsague M, De Sanjose S, Bruni L, Saraiya M, Bray F, et al. Worldwide burden of cervical cancer in 2008. *J Annals of Oncology*. 2011; 22(12): 2675–2686.
5. Ahsan H, Ahad A, Iqbal J, Siddiqui WA. Pharmacological potential of tocotrienols: A Review. *J Nutrition and Metabolism*. 2014; 11(52):1-22.
6. American Cancer Society. The american cancer society guidelines for the prevention and early detection of cervical

- cancer [Internet]. America: American Cancer Society; 2015 [disitasi tanggal 4 desember 2018]. Tersedia dari <http://www.cancer.org/>
7. Adi P, Ruben D, Istar Y, Ambar M. The expression of p53, rb, and c-myc protein in cervical cancer by immunohistochemistry stain. *J Biodiversitas*. 2005; 6(3):157-159.
 8. I Okechukwu A. Molecular pathogenesis of cervical cancer. *J Cancer Biology & Therapy*. 2011;11(3):295-306.
 9. Wright TC. Pathology of HPV infection at the cytologic and histologic levels: Basis for a 2 tiered morphologic classification system. *International Journal of Gynecology and Obstetrics*. 2006; 94(1):22-31.
 10. Purwiyatno H. Sepuluh karakter unggul minyak kelapa sawit, *Info sawit*. Bogor : IPB; 2010. hlm. 30-32.
 11. Ammu KR, Ai-Ling L, Pak-Fong W, Jagmohni K, Htin A, Kalanithi N, et al. Daily supplementation of tocotrienol-rich-fraction or α -tocopherol did not induce immunomodulatory changes in healthy human volunteers. *British J of Nutrition*. 2009; 101(6):810-815.
 12. Siti BB, Faizah O, Santhana RL, Mokhtar A B, Srijit D, Jamaludin M, et al. The effects of palm oil tocotrienol-rich-fraction supplementation on biochemical parameters, oxidative stress and the vascular wall of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Clinics*. 2009;64(3):235-44.
 13. Maria LC. An update on vitamin E, Tocopherol and Tocotrienol—Perspectives. *J Molecules*. 2010; 15(4):2103-13.
 14. Shim MS. Poly (D,L-lactic acid-co-glycolic acid)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly (D,L-lactic acid-co-glycolic acid) triblock copolymer and thermoreversible phase transition in water. *J Biomed Mater*. 2002; 61(2):188-96.
 15. Chen J, Tian B, Yin X. Preparation, characterization and transfection efficiency of cationic PEGylated PLA nanoparticles as gene delivery systems. *J Biotechnol*. 2007; 130(2): 107-13.
 16. Li X, Yang Z, Yang K. Self-assembled polymeric micellar nanoparticles as nanocarriers for poorly soluble anticancer drug ethaselen. *J Nanoscale Res Lett*. 2009; 4(12): 1502–11.
 17. Makadia HK, Siegel SJ. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *J Polymers*. 2011; 3(3):1377- 97.