

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang Masalah

Doksorubisin merupakan salah satu obat yang sering digunakan untuk terapi pengobatan karsinoma payudara, saluran empedu, jaringan endometrium, esofagus dan hati, limfoma maligma (hodgkin) (Murphy *et al.*, 1995). Mekanisme doksorubisin sebagai agen kemoterapi adalah 1) penghambatan sintesis DNA; 2) pembentukan radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan DNA atau peroksidasi lipid; 3) pengikatan DNA dan alkilasi; 4) ikatan silang DNA; 5) gangguan pada DNA underwinding atau pemisahan untai DNA dan aktifitas helikase; 6) berefek langsung pada membran; 7) menginisiasi kerusakan DNA melalui penghambatan topoisomerase II; dan 8) induksi apoptosis sebagai respon terhadap penghambatan topoisomerase II (Gewirtz, 1999).

Mekanisme doksorubisin pada terapi kanker memberikan efek samping toksik antara lain pada organ jantung, otak, hati dan ginjal, dimana kardiotoxicitas merupakan resiko terbesar akibat terapi doksorubisin (Tacar *et al.*, 2012). Khattry *et al.* (2009) menunjukkan bahwa 27% pasien mengalami penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri > 10% pada penggunaan doksorubisin 300-450 mg/m<sup>2</sup>. Chung *et al.* (2013) melaporkan sebanyak 29 dari 174 pasien (16,7%) mengalami penurunan fraksi ejeksi > 10% atau penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri di bawah 55% dari batas normal tanpa gejala gagal jantung.

Adanya doksorubisin, mengakibatkan ROS menyesuaikan diri dengan TLR4, yang meningkatkan kadar TNF- $\alpha$ . Ketika ROS meningkat, apoptosis kaskade diaktifkan oleh sitokrom c yang keluar dari mitokondria. Apabila akumulasi doksorubisin mencapai 500 mg/m<sup>2</sup>, resiko kardiomiopati meningkat sehingga memungkinkan terjadinya gagal jantung kongesti pada pasien (Sakata *et al.*, 2007). Penelitian lain menunjukkan doksorubisin menyebabkan penurunan regulasi pada GATA 4, aktivasi p53 dan degradasi p300 yang mengarah ke apoptosis kardiomyosit (Tacar *et al.*, 2012).

Berbagai antioksidan telah dievaluasi dalam berbagai model eksperimental untuk mengetahui kemampuannya dalam mengurangi kardiotoxicitas yang diakibatkan doksorubisin, seperti vitamin E, curcumin, lipoic acid, dan venoruton (Jain, 2000). Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa *Allium sativum* yang mengandung senyawa potassium, fosfor dan zat besi, saponin, steroid, tanin, karbohidrat dan *cardiac glycosides*, alkaloid, *cardenolide*, flavonoid, antrakuinon and *cyanogenic glycosides* (Mikail, 2010), memiliki aktivitas immunomodulator, hepatoprotektor dan antioksidan serta adanya efek protektif terhadap toksisitas jantung akibat induksi doksorubisin tanpa mempengaruhi efek doksorubisin sebagai obat anti tumor (Khan *et al.*, 2014). Selain itu, Pursitasari (2016) membuktikan bahwa ekstrak etanol herba alfalfa dosis 250, 500 dan 1000mg/KgBB memiliki efek kardioprotektif untuk mengatasi efek samping doksorubisin.

Khandaker *et al.* (2008) menyebutkan bahwa daun bayam merah mengandung senyawa bioaktif seperti betacyanin, polifenol dan antioksidan yang

sangat baik bagi kesehatan. Selain itu, daun bayam merah mengandung protein, vitamin A, vitamin C, asam amino, mineral, fosfor, purin, tannin, flavonoid dan asam oksalat yang sangat dibutuhkan oleh tubuh (Dalimartha, 2009). Ekstrak daun bayam merah mengandung senyawa flavonoid seperti flavon yang memiliki aktivitas antioksidan (Alam *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian di atas, daun bayam merah diduga memiliki efek kardioprotektif sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai efek kardioprotektif ekstrak etanol daun bayam merah pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi doksorubisin. Hal ini untuk membuktikan efektivitas dari ekstrak etanol daun bayam merah dalam mencegah efek samping kardiotoxik akibat penggunaan doksorubisin.

### **B. Perumusan Masalah**

Apakah ekstrak etanol dan bayam merah mampu menghambat efek kardiotoxik pada tikus yang diinduksi doksorubisin?

### **C. Tujuan Penelitian**

Membuktikan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah mampu menghambat efek kardiotoxik pada tikus yang diinduksi doksorubisin

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek kardioprotektif ekstrak etanol daun bayam merah untuk mengurangi efek samping dari doksorubisin dan sebagai bahan referensi bagi penelitian sejenis.

## E. TINJAUAN PUSTAKA

### 1. Doksorubisin

Doksorubisin merupakan salah satu obat yang sering digunakan untuk terapi pengobatan karsinoma payudara, saluran empedu, jaringan endometrium, esofagus dan hati, limfoma maligma (hodgkin) (Murphy *et al.*, 1995). Mekanisme doksorubisin sebagai agen kemoterapi adalah 1) penghambatan sintesis DNA; 2) pembentukan radikal bebas yang mengakibatkan kerusakan DNA atau peroksidasi lipid; 3) pengikatan DNA dan alkilasi; 4) ikatan silang DNA; 5) gangguan pada DNA underwinding atau pemisahan untai DNA dan aktifitas helikase; 6) berefek langsung pada membran; 7) menginisiasi kerusakan DNA melalui penghambatan topoisomerase II; dan 8) induksi apoptosis sebagai respon terhadap penghambatan topoisomerase II (Gewirtz, 1999).

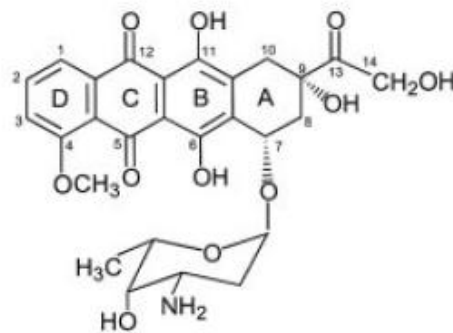
Mekanisme doksorubisin menyebabkan kardiomiopati melalui stres oksidatif, dimana doksorubisin akan menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan miofibrillar dan disregulasi kalsium intraseluler. Radikal bebas secara umum mampu meningkatkan kerusakan jantung melalui reaksi kimia enzim molekuler seperti *nitric oxide synthase* (NOS) dan *NAD(P)H Oxidase* yang berinteraksi dengan doksorubisin dan menginduksi stress oksidatif. Stress oksidatif dan *reactive oxygen species* (ROS) yang ditimbulkan oleh doksorubisin mengakibatkan terjadinya apoptosis kardiomyosit (Octavia *et al.*, 2012). Doksorubisin tidak hanya menginduksi apoptosis terhadap kardiomyosit tetapi juga berpengaruh

terhadap sel endotelial, sebagai indikasi terjadinya aktivasi caspase dan degradasi DNA internucleosomal. Selanjutnya, toksisitas jantung akibat doksorubisin, diperantarai setidaknya sebagian oleh perubahan pada fosfat, tingkat endotelin-1, dan gangguan sinyal miokard adrenergik (Octavia *et al.*, 2012).

Dokso-*rubisin* memiliki efek samping toksik antara lain pada organ jantung, otak, hati dan ginjal, dimana kardi-*toksisitas* merupakan resiko terbesar akibat terapi dokso-*rubisin* (Tacar *et al.*, 2012). Penurunan fungsi jantung akibat penggunaan dokso-*rubisin* dipengaruhi oleh dosis kumulatif, jenis kelamin, penyakit komorbiditas (hipertensi, diabetes mellitus, penyakit jantung), riwayat radiasi pada dada kiri dan penggunaan obat selain obat antikanker yang juga bersifat kardi-*toksik* (Ewer & Ewer, 2010). Faktor risikonya antara lain adalah usia, pada lansia dimana usia lebih dari 65 tahun atau anak-anak dengan usia kurang dari 4 tahun memiliki risiko yang lebih tinggi (Hershman *et al.* 2008). Bovelli *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa efek samping dokso-*rubisin* ini dapat menyebabkan terhentinya pengobatan dan meningkatkan morbiditas.

Hequet *et al.* (2004) melaporkan sebanyak 27,65% pasien yang mendapatkan dokso-*rubisin* dengan dosis kumulatif rata-rata 300 mg/m<sup>2</sup> memenuhi kriteria mengalami kardiomiopati subklinik dan hanya satu pasien yang berkembang menjadi gagal jantung kongestif. Penelitian Khattry *et al.* (2009) menunjukkan bahwa 27% pasien mengalami penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri >10% pada penggunaan dokso-*rubisin*

300-450 mg/m<sup>2</sup> . Chung *et al.* (2013) melaporkan sebanyak 29 dari 174 pasien (16,7%) mengalami penurunan fraksi ejeksi > 10% atau penurunan fraksi ejeksi ventrikel kiri di bawah 55% dari batas normal tanpa gejala gagal jantung. Doksorubisin memiliki struktur kimia yang terdapat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur Kimia Doksorubisin (Minotti *et al.*, 2004)

## 2. *Lactate Dehydrogenase*

*Lactate Dehydrogenase* (LDH) merupakan suatu enzim yang melepaskan hidrogen dari suatu zat yang menjadi katalisator proses konversi laktat menjadi piruvat. Enzim yang tersebar luas ke semua jaringan terutama ginjal, rangka, hati, dan miokardium. Peningkatan LDH merupakan pertanda telah terjadinya kerusakan jaringan (Sutedjo, 2006). LDH didapatkan dari semua sel yang bermetabolisme, dan jika sel rusak maka ditemukan peningkatan kadar LDH dalam serum. LDH serum total tidak spesifik terhadap suatu jaringan, yang spesifik terhadap jaringan tertentu ialah isoenzimnya yang dikenal dengan LDH1 sampai LDH5. LDH1 dan LDH2 ditemukan pada jantung, ginjal, otak dan sel darah merah. Isoenzim

LDH3 ditemukan pada kelenjar tiroid, kelenjar adrenal, kelenjar getah bening, pankreas, limpa, timus dan leukosit. Isoenzim LDH4 dan LDH5 ditemukan pada hati dan otot skeletal. Peningkatan aktivitas LDH dalam serum ditemukan pada pasien dengan infark miokard. Puncaknya terjadi pada waktu 48 jam setelah terjadi infark miokard dan akan tetap tinggi pada waktu 4 sampai 14 hari sebelum kembali pada keadaan normal (Nigam, 2007).

Terdapat dua metode yang biasa digunakan untuk mengukur kadar LDH total dalam darah adalah metode LDH laktat (LDHLP) dan metode LDH piruvat (LDHPL). Pengukuran kadar LDH total dalam darah ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm, dengan cara mengukur sejumlah peningkatan NADH yang diproduksi pada metode LDHLP atau dengan mengukur penurunan NADH pada metode LDHPL (Vanderlinde, 1995).

### **3. Tanaman daun bayam merah**

Tanaman bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) merupakan salah satu jenis sayuran komersial yang mudah diperoleh. Bayam merah memiliki daya adaptasi yang tinggi pada beragam ekosistem. Siklus hidup bayam merah relatif singkat, umur panen bayam 3-4 minggu. Bayam merah dikenal dengan nama bayam gelatik, bayam kakap (Jakarta), bayem abrit, bayam lemah, bayam ringgit, bayam sekul (Jawa), jawa lufife (Halmahera Selatan), bayam roriha (ternate), loda kohori (tidore) (Heyne, 1987).

a. Klasifikasi Bayam Merah

Menurut klasifikasi dalam tata nama (sistematika) tumbuhan, tanaman bayam merah termasuk ke dalam :

Kerajaan : Plantae  
Sub Kerajaan : Tracheobionta  
Super divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Sub Kelas : Hamamelidae  
Bangsa : Caryophyta  
Suku : Amaranthaceae  
Marga : Amaranthus  
Jenis : *Amaranthus tricolor* L.

(Dalimartha, 2008)

b. Morfologi tanaman

Bayam merah pada gambar 2 memiliki berbagai warna daun seperti merah, ungu dan beraneka ragam melalui akumulasi berbagai pigmen termasuk betacyanin (Palada dan Chang, 2003). Tanaman bayam merah memiliki ukuran daun yang bervariasi mulai dari 16,3 cm<sup>2</sup> hingga 62,3 cm<sup>2</sup> (Shukla *et al.*, 2006). Bayam merah berbentuk batang yang tegak atau menaik, memiliki cabang yang pendek, cabang berasal dari pertengahan batang, daun tanaman bayam merah



berbentuk oval atau bulat dan memiliki bunga yang bersifat uniseksual. Benih bayam merah berwarna coklat kehitaman dan mengkilap (Das, 2013).



**Gambar 2. Morfologi Tanaman Bayam Merah** (Aneja *et al.*, 2011)

c. Kandungan senyawa aktif dan manfaat tanaman

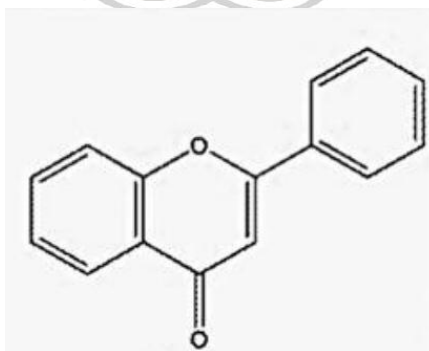
Khandaker *et al.* (2008) menyebutkan bahwa daun bayam merah mengandung senyawa bioaktif seperti betacyanin, polifenol dan antioksidan yang sangat baik bagi kesehatan. Bayam merah telah dikenal sebagai salah satu sayuran bergizi tinggi daunnya yang mengandung protein, vitamin A, vitamin C, asam amino, mineral, fosfor, purin, tannin, flavonoid dan asam oksalat yang sangat dibutuhkan oleh tubuh (Dalimartha, 2008).

Ekstrak daun bayam merah memiliki aktivitas antidiabetik, antihiperlipidemia, dan antioksidan (Dyahariesti, 2016; Clemente *et al.*, 2011). Penelitian Bihani *et al.*, (2013) menunjukkan bahwa ekstrak hidroalkoholik daun bayam merah mengandung glikosida, alkaloid,

saponin, flavonoid, fenol dan steroid sehingga memiliki aktivitas *anti-nociceptive* dan anti inflamasi. Wardani *et al.*(2016) menyimpulkan bahwa ekstrak etanol daun bayam merah memiliki efek diuretik pada tikus putih jantan galur wistar.

#### 4. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Golongan flavonoid ditemukan dalam semua tumbuhan (Markham, 1998). Flavonoid diklasifikasikan berdasarkan struktur kimia yaitu flavonol, flavon, flavanon, katekin (atau flavanol), *anthocyanidins*, isoflavon, dihydroflavonols, dan *chalcones*. Daun bayam merah mengandung senyawa flavonoid seperti flavon, senyawa flavon dan flavonol yang memiliki aksi dengan cara mendonorkan elektron dan bereaksi dengan radikal bebas untuk dirubah menjadi produk yang stabil sehingga mengakhiri reaksi berantai radikal bebas (Alam *et al.*, 2013). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Senyawa Flavonoid (Dahal and Mulukuri, 2015)

## F. Landasan Teori

Doksorubisin pada terapi kanker memberikan efek samping toksik antara lain pada organ jantung, otak, hati dan ginjal, dimana kardiotositas merupakan resiko terbesar akibat terapi doksorubisin (Tacar *et al.*, 2012). Mekanisme doksorubisin menyebabkan kardiomiopati melalui stres oksidatif, dimana doksorubisin akan menghasilkan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan miofibrillar dan disregulasi kalsium intraseluler. Radikal bebas secara umum mampu meningkatkan kerusakan jantung melalui reaksi kimia enzim molekuler seperti *nitric oxide synthase* (NOS) dan *NAD(P)H Oxidase* yang berinteraksi dengan doksorubisin dan menginduksi stress oksidatif. Stress oksidatif dan *reactive oxygen species* (ROS) yang ditimbulkan oleh doksorubisin mengakibatkan terjadinya apoptosis kardiomiosit (Octavia *et al.*, 2012).

Kardioprotektif yang berasal dari bahan alam yang memiliki aktivitas antioksidan antara lain adalah daun bayam merah. Daun bayam merah memiliki kandungan senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan (Alam *et al.*, 2013; Clemente and Desai, 2011; Dyahariesti *et al.*, 2016; Khandaker *et al.*). Berdasarkan uraian di atas, daun bayam merah diduga memiliki efek kardioprotektif untuk meminimalkan efek kardiotositas akibat penggunaan doksorubisin.

## G. Hipotesis

Ekstrak etanol daun bayam merah mampu menghambat efek kardiotosik pada tikus yang diinduksi doksorubisin.