

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling banyak terjadi pada wanita di dunia. Tahun 2015 terdapat 231,840 kasus baru dan sebanyak 40,290 diantaranya telah meninggal akibat kanker payudara. Kondisi ini semakin mengkhawatirkan karena insidensinya yang terus meningkat terutama di negara benua Afrika dan Asia (American Cancer Society, 2016).

Penelitian tentang pengobatan kanker sudah mulai berkembang tapi sayangnya belum ada obat yang efektif dan aman digunakan pada pasien pengidap kanker. Hal ini disebabkan karena biasanya obat anti kanker selain berkhasiat untuk anti kanker juga menyebabkan resistensi terhadap obat anti kanker. Masalah lain pada kemoterapi yaitu obat-obat antikanker hanya efektif untuk beberapa periode saja dan respon terapinya semakin lama semakin rendah (Meiyanto, 2003) serta adanya resistensi dari sel kanker terhadap obat-obat antikanker yang membuat antikanker tersebut tidak sensitif lagi terhadap sel. Hal ini mendorong peneliti untuk menemukan obat anti kanker yang aman dan efektif melalui usaha eksplorasi tanaman obat yang diduga berkhasiat sebagai antikanker. Serta dapat mengembangkan pengobatan alternatif yang lebih baik.

Kemenkes (2012) menyatakan bahwa terapi pada kanker payudara sangat ditentukan stadium dan ekspresi dari agen biomolekuler atau biomolekuler-signaling. Salah satu metode terapi kanker payudara adalah kemoterapi. Agen

kemoterapi yang sering digunakan pada terapi kanker payudara adalah doxorubicin. Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker seperti leukemia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium.

Efek samping yang fatal akibat penggunaan doxorubicin adalah terjadi kardiomiopati yang dikaitkan dengan terjadinya oksidasi dan terbentuknya metabolit abnormal yang bersifat toksik pada organ jantung. Manifestasi kardiotoksik yang ditimbulkan antara lain gagal jantung, iskemik, hipotensi, hipertensi, edema dan tromboemboli (Schlattner *et al*, 2006).

Indonesia memiliki beragam flora yang berpotensi sebagai obat tradisional. Sudah banyak penelitian yang terkait dengan bahan alam dan kini sudah mulai berkembang. Salah satu tanaman obat yang cukup potensial untuk dikembangkan sebagai obat antikanker adalah daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.). Senyawa aktif daun kenikir yang bertanggung jawab terhadap aktivitas anti kanker flavonoid glikosida kuersetin (Abas *et al.*, 2003).

Daun kenikir diduga mengandung senyawa kuersetin yang terbukti bersifat sitotoksik pada sel T47D. Pebriana (2008) melakukan uji sitotoksik terhadap sel T47D menggunakan ekstrak metanolik daun kenikir dengan hasil nilai IC_{50} sebesar 344,91 $\mu\text{g/mL}$. Uji sinergisitas kombinasi ekstrak metanolik kenikir dan doxorubicin pernah dilakukan terhadap sel kanker T47D yang menunjukkan bahwa efek sinergis kuat dengan CI 0,2 (Fita 2016). Ekstrak daun kenikir mampu menghambat proliferasi, invasi, dan pertumbuhan kanker, karena diduga ada senyawa yang berperan yaitu kuersetin (Pebriana, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan tersebut, ekstrak metanolik daun kenikir memiliki aktivitas dalam memacu kematian sel kanker payudara T47D, sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai antikanker dengan target aksi spesifik. Oleh karena itu, penelusuran potensi ekstrak kenikir selanjutnya adalah dengan menguji daun kenikir sebagai agen ko-kemoterapi terhadap sel kanker payudara yang lain yaitu sel MCF-7.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalahnya apakah kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doxorubicin menghasilkan efek sinergistik berdasarkan nilai *Combination Index* (CI) yang diperoleh pada sel kanker payudara MCF-7?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doxorubicin menghasilkan efek sinergistik berdasarkan nilai *Combination Index* (CI) yang diperoleh pada sel kanker payudara MCF-7.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diusulkan untuk mengeksplorasi bahan alam yang berpotensi dalam usaha penanganan kanker. Hasil penelitian ini akan sangat bermanfaat untuk menambah data ilmiah yang valid mengenai potensi ekstrak metanolik daun kenikir sebagai strategi ko-kemoterapi sel kanker payudara yang digunakan bersamaan dengan doxorubicin, sumber data yang bermanfaat bagi pengembangan penelitian selanjutnya.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kanker Payudara

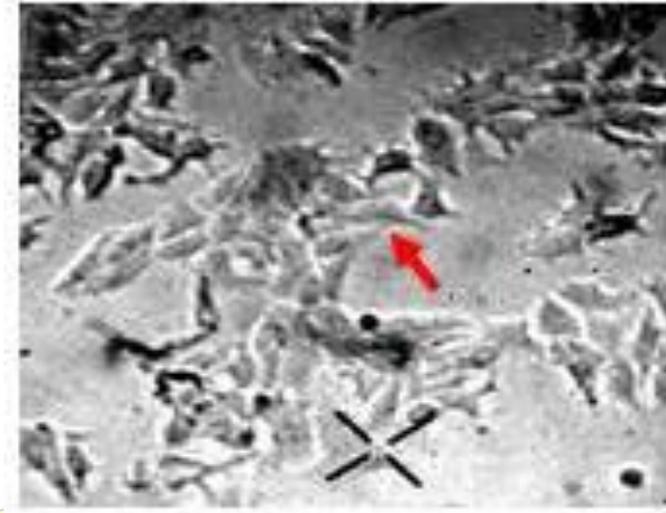
Kanker payudara adalah tumor ganas (karsinoma) yang tumbuh di dalam payudara. Insidensi kanker payudara pada wanita lebih banyak dibanding pria dengan perbandingan pria terkena kanker payudara hanya 1:100 dibanding wanita. Faktor utama penyebab adanya risiko kanker payudara adalah usia dari pasien. Risiko kanker payudara semakin meningkat dengan adanya beberapa faktor lain seperti, mutasi pada gen BRCA1 dan BRCA2, silsilah keluarga penderita kanker payudara, adanya hiperplasia pada uji biopsi, dan adanya riwayat pengobatan menggunakan radiasi dosis tinggi (Chen *et al.*, 2008).

Sel MCF-7 tergolong cell line adherent (ATCC, 2008b) yang mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), resisten terhadap doxorubicin, dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Prunet dkk., 2005). Hormon yang paling berperan pada dalam karsinogenesis kanker payudara adalah estrogen.

Interaksi estrogen pada *estrogen receptor* (ER) dapat menstimulasi transduksi sinyal yang menyebabkan proliferasi sel. ER α pada sel payudara adalah yang paling dominan sehingga salah satu pengobatan kanker khususnya kanker payudara adalah dengan menghambat aktivitas estrogen pada reseptor tersebut (Foster *et al.*, 2001).

2. Sel MCF-7

Sel MCF-7 (Gambar 1) merupakan salah satu model sel kanker payudara yang banyak digunakan dalam penelitian. Sel tersebut diambil dari jaringan payudara seorang wanita Kaukasian berumur 69 tahun golongan darah O, dengan Rh positif, berupa sel adherent (melekat) yang dapat ditumbuhkan dalam media penumbuh DMEM atau RPMI yang mengandung foetal bovine serum (FBS) 10% dan antibiotik Penicilin-Streptomycin 1% (Prunet dkk., 2005). Sel MCF-7 memiliki karakteristik antara lain resisten terhadap agen kemoterapi (Aouali *et al.*, 2003), mengekspresikan reseptor estrogen (ER +), overekspresi Bcl-2 (Amundson *et al.*, 2000) dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Prunet *et al.*, 2005). Sel MCF-7 tergolong *cell line adherent* (ATCC, 2008) yang mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), resisten terhadap doxorubicin (Zampieri dkk., 2002), dan tidak mengekspresikan caspase-3 (Prunet dkk., 2005).



Gambar 1. Morfologi sel MCF-7 (CCRC, 2014)

3. Tanaman Kenikir

a. Klasifikasi

Klasifikasi tanaman Kenikir (*Cosmos caudatus*) yang dikemukakan oleh Tjitrosoepomo (2007) yaitu:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliophyta
Ordo	: Fabales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Cosmos</i>
Spesies	: <i>Cosmos caudatus</i> Kunth.

b. Morfologi

Kenikir merupakan tanaman perdu, semusim, tidak berkayu dengan batang yang tumbuh tegak berwarna hijau keunguan. Kenikir memiliki daun yang majemuk, bersilang berhadapan, bentuk menyirip, ujung

runcing, tepi rata, dan berwarna hijau atau hijau kekuningan. Bunga tanaman kenikir merupakan bunga majemuk yang memiliki tangkai bunga, berbentuk seperti cawan, serta memiliki kelopak di bagian bawah bunga berwarna hijau yang berbentuk seperti lonceng. Biji tanaman kenikir keras dan kecil, berbentuk jarum, berwarna hitam, dan memiliki panjang sekitar 1 cm (Van den Bergh, 1994).



Gambar 2. Tanaman kenikir (CCRC, 2011)

Identifikasi terhadap tanaman kenikir (Gambar 2) yang dilakukan oleh Hermanto (2008) menunjukkan bahwa secara umum tanaman kenikir memiliki batang berbentuk bulat dengan percabangan yang melengkung ke atas dan berwarna hijau atau hijau kecoklatan serta bunga berwarna merah muda. Perbedaan yang terdapat pada delapan aksesori adalah bentuk belahan daun (simetris atau tidak simetris), aroma daun (kuat atau sedang), dan warna daun (hijau tua, hijau muda, atau hijau kekuningan).

Kenikir dapat tumbuh mencapai tinggi antara 50 cm hingga 150 cm (van den Bergh, 1994). Berdasarkan percobaan yang dilakukan oleh

Hermanto (2008), tanaman kenikir yang berasal dari Kecamatan Tamansari dapat mencapai tinggi 81.25 cm saat berumur 7 minggu setelah tanam (MST), sementara tanaman kenikir yang berasal dari Kecamatan Nanggung, pada umur yang sama, mencapai tinggi tanaman 21.25 cm. Kisaran tinggi tanaman tersebut, setelah diuji dengan metode statistik, tidak berbeda nyata satu dan lainnya dengan koefisien keragaman sebesar 26.01%. Hal tersebut membuktikan bahwa tanaman kenikir dapat bertumbuh dengan kisaran tinggi tanaman antara 21 hingga 81 cm (Hermanto, 2008).

c. Kandungan Kimia

Daun *Cosmos caudatus* mengandung saponin, flavonoid polifenol dan minyak atsiri. Akarnya mengandung hidroksieugenol dan koniferil alkohol (Fuzzati *et al.*, 1995).

Identifikasi kandungan flavonoid yang dilakukan oleh Batari (2007) menggunakan daun tanaman kenikir yang berasal dari pasar lokal di daerah Kabupaten Bogor, Jawa Barat. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa daun tanaman kenikir yang diekstrak dengan kloroform mengandung senyawa fenol dan flavonoid berturut-turut sebanyak 152.01 dan 52.18 mg per 100 g sampel segar. Nilai tersebut membuktikan bahwa daun tanaman kenikir dapat dijadikan sebagai alternatif bahan pangan karena memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi

d. Khasiat

Tanaman kenikir memiliki banyak kegunaan, salah satunya adalah bunganya dapat diekstrak menjadi zat pewarna serta memberikan warna kuning agak kecoklatan. Kenikir juga dapat digunakan sebagai tanaman hias dan aromanya digunakan untuk mengusir serangga (van den Bergh, 1994).

Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) banyak dikonsumsi masyarakat sebagai sayuran. Secara tradisional daun ini juga digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, lemah lambung, penguat tulang dan mengusir serangga. Daun dan pucuk tanaman kenikir dapat diambil dan dikonsumsi sebagai sayuran karena mengandung banyak air, serat, dan mineral (Rubatzky and Yamaguchi, 1998).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Pebriana (2008) menunjukkan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir memiliki sifat sitotoksik terhadap sel T47D dengan IC₅₀ sebesar 344,91 µg/ml serta memiliki kemungkinan dalam pemacuan efek sitotoksik melalui berbagai macam kemungkinan mekanisme.

e. Mekanisme Antikanker Daun Kenikir

Penelitian menunjukkan daun kenikir mengandung senyawa yang memiliki daya antioksidan cukup tinggi dengan IC₅₀ sebesar 70 mg/L. Senyawa yang bersifat antioksidan dapat memacu proses penghambatan pertumbuhan sel melalui jalur intrinsik (jalur mitokondria). Pemacuan

penghambatan pertumbuhan sel merupakan salah satu cara penghambatan karsinogenesis (Lotulung *et al.*, 2001).

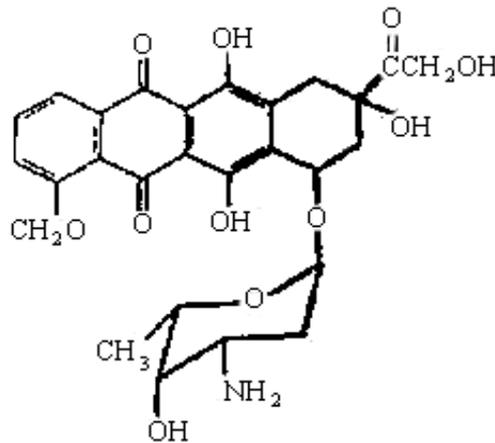
Abas *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir mengandung flavonoid glikosida kuersetin. Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya penghambatan pertumbuhan sel melalui penghambatan aktivitas DNA topoisomerase I/II, modulasi *signalling pathways*, penurunan ekspresi gen Bcl-2 dan Bcl-XL, peningkatan ekspresi gen Bax dan Bak, serta aktivasi endonuklease (Ren, *et al.*, 2003). Kuersetin memiliki kemampuan menginduksi penghambatan pertumbuhan sel sel kanker kolon Caco-2 dan HT-29 serta sel kanker leukemia HL-60 dengan cara menstimulasi pelepasan sitokrom c dari mitokondria (Taraphdar, 2001).

Pebriana (2008) melakukan uji sitotoksik ekstrak metanolik daun kenikir terhadap sel kanker payudara T47D, didapat nilai IC_{50} sebesar 345 $\mu\text{g/ml}$. Berdasarkan hasil uji sitotoksik, ekstrak metanolik daun kenikir memiliki nilai IC_{50} yang relatif tinggi terhadap sel T47D. Namun, pengamatan morfologi sel setelah perlakuan menunjukkan adanya fenomena kematian sel. Sel yang mati berbentuk bulat, tampak keruh dan mengapung.

4. Doxorubicin

Doxorubicin (Gambar 3) merupakan obat golongan antibiotik antrasiklin dengan nama dagang Adriamycin® yang digunakan dalam terapi berbagai jenis kanker. Obat ini memicu kerusakan DNA, dengan mekanisme

pengikatan DNA sel kanker dan pengeblokan topoisomerase II, sehingga DNA kusut dan sel kanker tidak dapat membelah (Potter *et al.*, 2002). Mekanisme tersebut umumnya membutuhkan p53 untuk menghambat siklus sel (Drummond, 2007).



Gambar 3. Struktur kimia Doxorubicin (CCRC, 2015)

Permasalahan dalam terapi kanker menggunakan doxorubicin adalah timbulnya efek samping dan terjadinya resistensi. Efek samping pada sel kanker, senyawa ini juga toksik pada jaringan normal. Efek samping yang timbul segera setelah pengobatan adalah rasa mual, aritmia reversibel, serta terjadinya immunosupresi. Doxorubicin juga bersifat kardiotoxik akibat terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS), meningkatnya kadar anion superoksida, dan penurunan ATP. Hal tersebut menyebabkan terjadi perlukaan pada jaringan, sehingga terapi dalam jangka waktu lama menimbulkan efek samping kardiomiopati yang diikuti dengan gagal jantung (Tyagi *et al.*, 2004).

Kardiotoksisitas doxorubicin bersifat *dose dependent* (Wattanapitayakul *et al.*, 2005). Uji klinis fase III menunjukkan bahwa penderita kanker payudara dengan mutasi *p53* lebih resisten terhadap

doxorubicin jika dibandingkan dengan penderita kanker payudara tanpa mutasi *p53* (Di Leo *et al.*, 2007).

F. Landasan Teori

Pebriana (2008) menyatakan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir diduga mengandung senyawa flavonoid glikosida kuersetin yang memiliki efek sitotoksik pada sel T47D dengan hasil nilai IC_{50} sebesar 344,91 $\mu\text{g/mL}$ dan mampu memacu kematian sel T47D. Penelitian Fita (2016) menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doxorubicin menghasilkan efek sinergis kuat dengan CI 0,2 pada sel T47D.

Aktivitas sinergisme kombinasi ekstrak metanol daun kenikir dan doxorubicin, kemungkinan dihasilkan dari target aksi yang berbeda oleh kedua senyawa tersebut dalam memacu penghambatan pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7. Mekanisme aksi doxorubicin menghambat siklus sel pada G_2/M (Rock dan DeMichele, 2003). Ekstrak metanol daun kenikir yang diketahui mengandung senyawa flavonoid dimana flavonoid memiliki aktivitas dalam penghambatan pada $G1/S$ (Gibellini dkk., 2011).

G. Hipotesis

Kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doxorubicin menghasilkan efek sinergistik berdasarkan nilai *Combination Index* (CI) yang diperoleh pada sel kanker payudara MCF-7.