

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker adalah suatu penyakit akibat hilangnya pengendalian dan mekanisme sel yang normal, sehingga sel akan tumbuh secara tidak teratur (Smart, 2010). Salah satu jenis kanker penyebab kematian tertinggi berdasarkan data *American Cancer Society* adalah kanker payudara (Savitri dkk., 2015). Kanker payudara mempunyai kasus baru di seluruh dunia sebesar 2.088.849 dengan jumlah kematian sebesar 626.679 kasus (GLOBOCAN, 2018). Saat ini, kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia. Jumlah kasus pada kanker payudara di Indonesia yaitu 58.256 kasus baru dan 22.692 kasus kematian (GLOBOCAN, 2018).

Sebagian besar kejadian kanker payudara berawal dari sel epitelial, sehingga kanker payudara dapat dikelompokkan sebagai karsinoma (Tambunan, 1995). Kanker payudara dapat terjadi karena adanya perubahan ekspresi maupun fungsi dari suppressor tumor seperti BRCA, p53 dan ER. Salah satu perubahan ekspresi maupun fungsi yang banyak terjadi pada kanker payudara adalah adanya mutasi pada p53 (Nurkhasanah dkk., 2017). Peran dari p53 diantaranya adalah mampu menginduksi terjadinya apoptosis dan menghambat siklus sel (Vousden dan Lu, 2002). Mutasi pada p53 dapat mengakibatkan ekspresi protein p53 menurun sehingga dapat menyebabkan berkurangnya kemampuan apoptosis dan sel akan berkembang terus hingga menjadi sel kanker (Tasminatun dkk., 2016).

Pengobatan kanker payudara umumnya dilakukan dengan berbagai cara diantaranya radioterapi dan kemoterapi (Savitri dkk., 2015), cara pengobatan ini menimbulkan efek samping yang merugikan (Wahyuni, 2007), sehingga mulai dilakukan pengembangan bahan alam sebagai alternatif pengobatan kanker, salah satu senyawa dari bahan alam yang dapat digunakan adalah antosianin (Shabana dkk., 2013).

Antosianin mempunyai aktivitas antikanker diantaranya pada kanker kolon, kanker kulit, kanker paru dan kanker saluran pencernaan (Wang dan Stoner, 2008). Antosianin merupakan pigmen berwarna biru, ungu atau merah yang terdapat pada tanaman, salah satunya pada kulit terong ungu (*Solanum melongena* L) yaitu antosianin jenis *delphinidin* (Wang dan Stoner, 2008 ; Sadilova, 2006). Selain itu, *delphinidin* mampu menginduksi apoptosis dan mempengaruhi siklus sel pada sel kanker kolon HCT16 (Patel dkk., 2013). *Delphinidin* dapat menginduksi apoptosis dengan melibatkan p53 pada sel kanker prostat (Jeong dkk., 2016).

Berdasarkan uraian di atas, maka menarik untuk dilakukan penelitian tentang pengaruh ekstrak etanol kulit terong ungu (*Solanum melongena* L.) terhadap sitotoksitas pada sel kanker payudara T47D menggunakan metode MTT Assay dan pengamatan ekspresi protein p53 melalui uji imunositokimia dengan *software ImageJ*.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah diuraikan, maka dapat disampaikan perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol kulit terong ungu (EEKTU) memiliki pengaruh terhadap sitotoksisitas pada sel kanker payudara T47D?
2. Apakah ekstrak etanol kulit terong ungu (EEKTU) mampu meningkatkan ekspresi protein p53 pada sel kanker payudara T47D?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan perumusan masalah yang didapat maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Membuktikan pengaruh ekstrak etanol kulit terong ungu terhadap sitotoksisitas pada sel kanker payudara T47D.
2. Membuktikan pengaruh ekstrak etanol kulit terong ungu dalam meningkatkan ekspresi protein p53 pada sel kanker payudara T47D.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat, antara lain:

1. Memberikan alternatif dalam pengobatan kanker payudara yang berasal dari bahan alam.
2. Menjadi acuan untuk pengembangan penelitian selanjutnya yang berbahan dasar kulit terong ungu.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kanker Payudara

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan hilangnya pengendalian sel untuk membelah secara normal sehingga mengakibatkan sel mengalami pertumbuhan yang tidak terkendali. Peristiwa tersebut akan menghasilkan sel abnormal dengan ditandai adanya benjolan atau tumor. Sel tumor akan diberi pasokan gizi dari pembuluh darah hingga mendominasi jaringan sehat lainnya dan dapat menyebar ke jaringan yang lain dan membentuk tumor baru apabila tidak diatasi dengan segera (Smart, 2010).

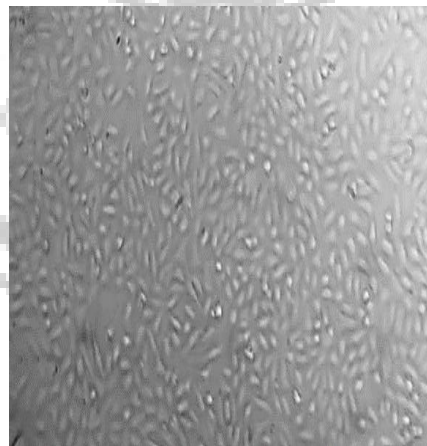
Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dengan prevalensi tertinggi di Indonesia (GLOBOCAN, 2018). Sebagian besar kejadian kanker payudara merupakan karsinoma dimana 90% berasal dari epitel duktus laktiferus dan 10% sisanya berasal dari epitel duktus terminal (Tambunan, 1995). Kanker payudara adalah salah satu jenis tumor ganas yang tumbuh di jaringan payudara dan dapat tumbuh di dalam kelenjar susu, saluran susu, jaringan lemak ataupun jaringan ikat pada payudara (Smart, 2010). Kanker payudara dapat dikelompokkan menjadi dua tipe, yaitu tipe non invasif dan tipe invasif. Kanker payudara non invasif adalah kanker yang belum menyebar ke seluruh bagian tubuh, sedangkan kanker payudara invasif adalah kanker yang sudah menyebar di bagian payudara hingga ke seluruh tubuh (Smart, 2010).

Setiap jenis kanker memiliki gejala khusus yang membedakan antara satu jenis kanker dengan jenis lainnya, tak terkecuali pada kanker payudara. Gejala khusus yang ditimbulkan akibat kanker payudara dapat berupa benjolan pada payudara yang tidak terasa nyeri dan dapat digerakkan bila masih tahap awal, namun pada tahap lanjutan akan melekat pada dinding payudara atau kulit di sekitarnya. Benjolan tersebut dapat membengkak dan menimbulkan borok pada kulit. Gejala lain yaitu adanya perubahan warna menjadi kemerahan dan tekstur pada kulit di sekitar payudara, puting susu seperti tertarik ke dalam dan terasa gatal, perubahan bentuk dan ukuran payudara, adanya sisik di sekitar payudara, serta keluarnya cairan tidak normal dari puting susu seperti darah atau nanah (Smart, 2010).

Kanker payudara dapat muncul apabila ada faktor risiko seperti, faktor genetik, faktor hormonal, pemakaian alkohol, pernah menderita kanker payudara sebelumnya, dan terpapar oleh bahan kimia (Smart, 2010), namun salah satu faktor yang dominan adalah faktor genetik atau keturunan. Sekitar 60-70% dari kejadian kanker payudara akibat genetik melibatkan gen *brca-1* dan *brca-2* dengan persentase faktor risiko sebesar 50-80%. Selain itu, adanya mutasi pada p53 juga dapat mengakibatkan terjadinya kanker payudara (Arun dan Hortobagyi, 2002).

2. Sel Kanker Payudara T47D

Sel kanker payudara T47D merupakan *continous cell line* yang di dapat dari *pleural effusion* seorang wanita berumur 54 tahun yang menderita duktal karsinoma (Burdall dkk., 2003). Sel ini sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena penanganannya mudah, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall dkk., 2003). Sel kanker payudara T47D mengekspresikan p53 yang termutasi. *Missence mutation* terjadi pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain*, L2), sehingga p53 tidak dapat berikatan dengan *response element* pada DNA. Hal ini mengakibatkan berkurangnya kemampuan p53 dalam pengaturan pada siklus sel dan apoptosis (O'Connor dkk., 1997). Sel kanker payudara dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel Kanker Payudara T47D (Dokumentasi sendiri)

3. Terong Ungu (*Solanum melongena* L.)

Terong ungu merupakan tanaman yang umumnya digunakan sebagai bahan masakan atau dapat dimakan sebagai lalapan. Namun, terong ungu memiliki khasiat lain dalam mencegah atau mengobati berbagai jenis penyakit. Terdapat beberapa jenis dari tanaman terong, antara lain: terong bogor, terong craigi, terong gelatik, terong kopek dan terong medan. Terong ungu memiliki beragam macam nama di daerah Indonesia, diantaranya: treung (Aceh) ; terung (Batak, Jawa, Sunda, Bugis) ; bodong-bodong (Makassar) ; pelale (Halmahera) dan fafaki (Tidore) (Latief, 2009).

a. Deskripsi Tanaman

Tanaman terong termasuk dalam keluarga *Solanaceae* yang dapat ditanam secara tahunan dan termasuk tanaman beriklim panas. Tanaman ini umumnya dapat tumbuh dengan tinggi berkisar antara 40 cm-150 cm (16-57 inci). Jenis tanaman terong setengah liar dapat tumbuh lebih besar dengan tinggi 225 cm (7 kaki) dan daunnya mempunyai panjang lebih dari 30 cm (12 inci) dan lebar 15 cm (6 inci). Akar dari tanaman ini memiliki sistem perakaran tunggang dengan warna putih kecokelatan. Tanaman terong memiliki batang yang tumbuh dengan tegak dan bercabang-cabang, dimana batang ini tertutupi oleh rambut tipis berwarna kelabu (Wijayanti, 2016).

Daunnya berbentuk bulat telur, elips, atau memanjang dengan ukuran panjang 10-20 cm (4-8 inci) dan lebar 5-10 cm (2-4 inci). Bunga dari tanaman ini mempunyai warna mulai putih hingga ungu serta memiliki mahkota lima lobus atau berbentuk bintang dan

memiliki benang sari berwarna kuning (Wijayanti, 2016). Selain itu, buah terong ungu memiliki bentuk dari oval sampai bundar hingga lonjong panjang dengan warna yang bervariasi seperti hijau atau hijau keputihan, ungu sampai ungu muda atau ungu keputihan. Buah terong ungu memiliki rasa beragam dari manis, agak manis hingga agak asam (Latief, 2009). Tanaman terong ungu dapat dilihat pada Gambar 2.

b. Klasifikasi Tanaman

Kingdom	: <u>Plantae</u>
Subkingdom	: <u>Tracheobionta</u>
Superdivisi	: <u>Spermatophyta</u>
Divisi	: <u>Magnoliophyta</u>
Kelas	: <u>Magnoliopsida</u>
Subkelas	: <u>Asteridae</u>
Order	: <u>Solanales</u>
Family	: <u>Solanaceae</u>
Genus	: <u>Solanum L.</u>
Species	: <u><i>Solanum melongena</i> L.</u>

(USDA, 2018)



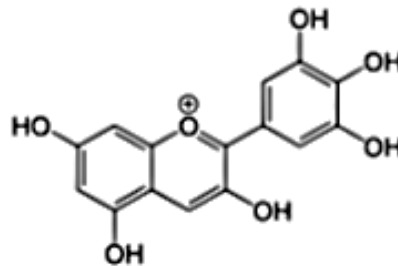
Gambar 2. Terong Ungu (*Solanum melongena* L.) (Dokumentasi sendiri)

c. Kandungan Kimia Terong Ungu

Ekstrak etanol kulit terong ungu mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan polifenol (Tandi, 2018). Senyawa lain yaitu *delphinidin* yang merupakan antosianin dengan komponen paling banyak yaitu 84% ditemukan pada kulit terong ungu. Antosianin *delphinidin* merupakan golongan flavonoid (Sadilova dkk, 2006 ; Gallo dkk., 2014). Selain itu, terdapat pula striknin, skopolamin, skopoletin, skoparon dan solasodin (Latief, 2009). Struktur kimia dari antosianin *delphinidin* dapat dilihat pada Gambar 3.

d. Khasiat Terong Ungu

Terong ungu memiliki potensi untuk menurunkan kolesterol, mencegah hipertensi, mencegah stroke, rhinitis alergi, aktivitas hepatoprotektor (Latief, 2009 ; Akanitapichat dkk., 2010). Kulitnya yang mengandung antosianin memiliki aktivitas sebagai antikanker (Shabana dkk., 2013).



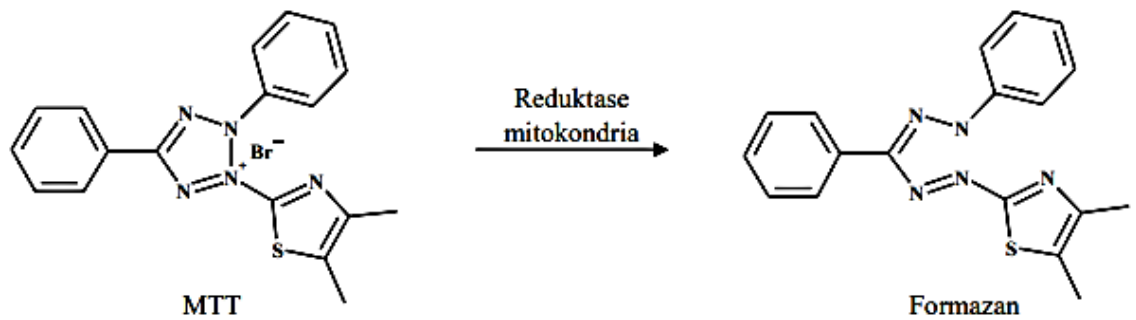
Gambar 3. Struktur kimia antosianin *dephinidin* (Patel dkk., 2013)

4. Uji Sitotoksitas

Uji sitotoksitas adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksitas yaitu nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel (Haryoto dkk., 2013).

Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode pengamatan MTT (3 – (4–5 – dimetiltiazol-2-yl) – 2,5 – difenil tetrazolium bromid). MTT merupakan garam tetrazolium bersifat larut dalam air dengan menghasilkan larutan berwarna kuning. Sel hidup dapat mereduksi MTT sehingga akan berwarna ungu, sedangkan sel mati tidak dapat mereduksi MTT karena enzim di dalam sel tidak berfungsi lagi dan tidak menunjukkan adanya perubahan warna. Hal ini karena adanya enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria yang bekerja pada sel aktif dan memetabolisme garam tetrazolium, sehingga terjadi pemutusan cincin tetrazolium yang

menyebabkan tetrazolium berubah menjadi formazan yang tidak larut dan berwarna ungu (Mosmann, 1983). Reaksi reduksi dari MTT menjadi Formazan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi Reduksi MTT Menjadi Formazan (Wijaya dkk., 2013)

5. Imunositokimia

Imunositokimia adalah suatu teknik yang digunakan untuk mengetahui keberadaan protein atau antigen spesifik dalam suatu sel baik kultur sel maupun suspensi sel dengan menggunakan antibodi spesifik yang terikat padanya. Pengamatan ini dapat menggunakan pemeriksaan di bawah mikroskop. Sampel yang dapat dianalisis menggunakan metode ini antara lain apusan darah, sel yang dikultur dan suspensi sel. Perlakuan sampel antara yang satu dengan yang lainnya memiliki perlakuan yang berbeda (IHC World, 2018).

Sel yang akan diwarnai dapat ditempatkan pada sebuah penyangga padat untuk memudahkan pengamatan. Penyangga padat yang dapat digunakan antara lain *microscope slides*, *coverslip* dan *optically suitable plastic support*. Tahapan dalam imunositokimia ada 4 tahapan yaitu 1) preparasi

sel, 2) fiksasi 3) pewarnaan antibodi dan 4) pengamatan dan analisis hasil (IHC World, 2018).

6. Protein p53

Protein p53 (p53) merupakan suatu protein tumor suppressor yang disandi oleh gen p53 (TP53) yang berperan pada jalur respon stress sel dimana dapat mempengaruhi induksi apoptosis, pengaturan pada siklus sel serta perbaikan DNA. Apabila ada kerusakan sel maka p53 akan menginisiasi apoptosis yang akan menghancurkan sel yang rusak tersebut (Prakoewa, 2008 ; Hofseth dkk., 2004).

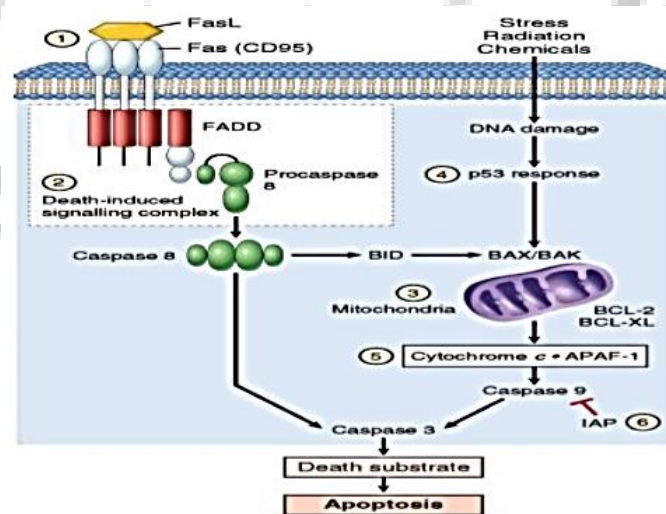
a. Mutasi p53

Mutasi pada p53 dapat terjadi pada lebih dari 50% kasus kanker di seluruh dunia dengan 35% kasus diantaranya adalah kasus kanker payudara (Bai dan Zhu, 2006 ; Suyanto dkk., 2008). Mutasi p53 umumnya muncul pada duktal karsinoma dengan kondisi ER dan PR negatif, dan terjadi peningkatan proliferasi (Suyanto dkk., 2008). Mutasi ini dapat mengakibatkan ekspresi protein p53 menurun (Tasminatun dkk., 2016).

b. Peranan dalam apoptosis

Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang berperan penting dalam perkembangan sel normal dan memiliki perubahan biologis seperti penyusutan sitoplasma maupun degradasi DNA (Lee dkk., 2009).

Pada saat sel mengalami kondisi stress seperti radiasi, adanya zat kimia, hipoksia, aktivasi onkogen maka akan memicu terjadinya kerusakan DNA (Suyanto dkk., 2008). Kerusakan DNA akan mengakibatkan p53 menjadi aktif dan mengaktivasi protein pro-apoptosis seperti Bax dan Bak namun akan terjadi efek yang berlawanan dari protein anti-apoptosis seperti Bcl-2 dan Bcl-xl sehingga akan terjadi keseimbangan atau homeostatis pada mitokondria. Selanjutnya, akan terjadi peningkatan permeabilitas pada mitokondria yang mengakibatkan pelepasan sitokrom c ke sitoplasma dan mengaktifkan caspase 3 melalui kompleks sitokrom c, Apaf-1 dan caspase 9. Caspase 3 yang aktif akan memicu substrat dengan hasil akhir apoptosis. Namun, apoptosis akan berkurang bila p53 mengalami mutasi (Bai dan Zhu, 2006 ; Elmore, 2007 ; Tasminatun dkk., 2016). Proses terjadinya apoptosis dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Proses terjadinya apoptosis (Sinuhaji, 2015)

F. Landasan Teori

Uji sitotoksitas dilakukan dengan MTT *Assay* sebagai uji pendahuluan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa (Haryoto dkk., 2013). Kulit terong ungu memiliki aktivitas sebagai antikanker dimana kulitnya memiliki kandungan antosianin yang dominan yaitu *delphinidin* dengan persentase 84% (Sadilova dkk., 2016 ; Shabana dkk., 2013). *Delphinidin* mampu menginduksi apoptosis dan mempengaruhi siklus sel pada sel kanker kolon HCT16 (Patel dkk., 2013). Selain itu, *delphinidin* dapat menginduksi apoptosis dengan melibatkan p53 pada sel kanker prostat (Jeong dkk., 2016). Peran dari p53 terkait dengan siklus sel dan induksi apoptosis (Vousden dan Lu, 2002).

Penginduksian apoptosis melalui p53 dipicu oleh adanya kerusakan DNA, sehingga mengakibatkan p53 menjadi aktif. Aktifnya p53 akan memicu terjadinya apoptosis melalui bantuan keluarga protein Bcl seperti Bax dan Bcl-2 yang akan mengaktifasi jalur *caspase* (Bai dan Zhu, 2006 ; Elmore, 2007). Namun, apoptosis akan berkurang bila p53 mengalami mutasi (Tasminatun dkk., 2016).

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori tersebut, hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. EEKTU memiliki pengaruh terhadap sitotoksitas pada sel kanker payudara T47D.
2. EEKTU mampu meningkatkan ekspresi protein p53 pada sel kanker payudara T47D.

