

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Berdasarkan estimasi Globocan (2012), jenis kanker tertinggi pada perempuan di dunia adalah kanker payudara dengan persentase kasus baru sebesar 43,1% dan penyebab kematian tertinggi pada perempuan yaitu sebesar 12,9%. Diperkirakan 41.070 kematian akibat kanker payudara (40.610 perempuan, 460 laki-laki) akan terjadi pada tahun 2017 di Amerika Serikat (American Cancer Society, 2017). Di Indonesia, kanker payudara menduduki peringkat kedua prevalensinya setelah kanker serviks pada perempuan (Tjindarbuni dan Mangunkusumo, 2002).

Doksorubisin merupakan salah satu agen kemoterapi yang paling banyak digunakan dalam pengobatan kanker (Smith *et al.*, 2006). Mekanisme yang memperantarai kerja doksorubisin dalam menghentikan pertumbuhan sel kanker antara lain interkalasi dengan DNA sehingga menghambat sintesis makromolekuler, membentuk radikal bebas yang menyebabkan kerusakan DNA atau peroksidasi lipid, pengikatan DNA dan alkilasi, DNA *cross-linking*, pemisahan untai DNA dan aktivitas helikase, berefek secara langsung pada membran, menginisiasi kerusakan DNA melalui penghambatan topoisomerase II, dan induksi apoptosis sebagai respon penghambatan topoisomerase II (Gewirtz, 1999). Sebagai inhibitor topoisomerase, doksorubisin mampu menginduksi apoptosis melalui jalur Fas pada sel kanker tiroid (Massart *et al.*, 2004). Pada Sel MCF-7 pemberian adriamisin (doksorubisin) menyebabkan penurunan ekspresi

protein Bcl-2 dan peningkatan Bax (Leung *and* Wang, 1999).

Akan tetapi, terapi doksorubisin menimbulkan efek samping seperti hepatotoksisitas (El-Sayyad *et al.*, 2009), kardiotoxsisitas (Minotti *et al.*, 2004) dan risiko resistensi (Xu *et al.*, 2014), sehingga pengobatan tidak efektif. Perbedaan ekspresi ER dari jenis sel kanker payudara menunjukkan respon molekuler (ekspresi Bcl2 dan cyclin D1) yang berbeda dari doksorubisin (Kaabinejadian *et al.*, 2008). Ekspresi protein p53 termutasi pada sel kanker T47D menyebabkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi *cell cycle* dan apoptosis (Tanyi *et al.*, 1999). Pemaparan sel T47D dengan doksorubisin selama 24 jam menyebabkan peningkatan kadar protein kinase Akt terfosforilasi yang tergantung pada dosis dan waktu pemaparan (Li *et al.*, 2005). Protein kinase Akt yang terfosforilasi berperan dalam menghambat apoptosis dengan memodulasi aktivitas dari protein Bcl-2 dan Caspase-9 serta BAD (Flusberg *et al.*, 2001).

Salah satu strategi yang dapat dikembangkan adalah dengan mengkombinasikan doksorubisin sebagai agen kemoterapi dengan suatu tanaman yang memiliki aktivitas sebagai agen kemopreventif. Kombinasi bertujuan untuk menghasilkan efek yang sinergis dan meningkatkan sensitivitas agen kemoterapi terhadap sel target, sehingga dosis agen kemoterapi dapat diturunkan (Zhao *et al.*, 2004). Ekstrak metanolik daun kenikir dilaporkan memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai IC_{50} 344,91 μ g/ml dan memiliki kemungkinan dalam memacu apoptosis dengan senyawa yang diduga berperan adalah senyawa dari golongan flavonoid (Pebriana dkk., 2008). Fita (2016) menyebutkan bahwa kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dengan

doksorubisin mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis pada sel kanker payudara T47D.

Patil *et al.*(2013), menyebutkan bahwa metanol mampu menarik senyawa alkaloid, karbohidrat, glikosida, fenol, tanin dan flavonoid dari daun kenikir. Abas *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir mengandung flavonoid dan glikosida kuersetin. Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis 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 merupakan salah satu senyawa dari golongan flavonoid jenis flavonol (Tapas *et al.*, 2008), yang mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MDA-MB-231 melalui jalur mitokondria dan caspase-3 (Chien *et al.*, 2009). Apoptosis merupakan program bunuh diri dari sebuah sel. Program ini memiliki peran yang penting untuk menjaga homeostatis perkembangbiakan sel (Evan *and* Littlewood,1998).

Kombinasi agen kemoterapi dan bahan alam terbukti dapat meningkatkan induksi apoptosis sel kanker payudara. Misalnya, kombinasi doksorubisin dengan ekstrak etanol dari kulit *Citrus aurantifolia* (Adina *et al.*, 2012) dan kombinasi doksorubisin dengan damnacanthal yang diekstrak dari akar *Morinda citrifolia* terbukti mampu meningkatkan apoptosis sel kanker payudara MCF-7 (Aziz *et al.*, 2016). Disamping itu, kombinasi fraksi tidak larut n-heksan awar-awar dan doksorubisin mampu meningkatkan *cleaved* PARP yang menunjukkan adanya

korelasi terhadap induksi apoptosis pada sel kanker payudara T47D (Nugroho dkk., 2013).

Hasil penelitian Fita (2016) perlu ditindaklanjuti dengan penelusuran mekanisme molekuler ke arah apoptosis sehingga dapat ditemukan dasar yang kuat untuk mengembangkan potensi daun kenikir sebagai agen kokemoterapi. Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan adanya pengaruh kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doksorubisin terhadap induksi apoptosis sel kanker payudara T47D.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan di atas, maka masalah dalam penelitian ini yaitu apakah kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) dan doksorubisin berpengaruh terhadap induksi apoptosis pada sel kanker payudara T47D ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dan doksorubisin terhadap induksi apoptosis pada sel kanker payudara T47D.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat:

1. Memberikan bukti ilmiah pengaruh kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doksorubisin terhadap induksi apoptosis sel kanker payudara T47D, sehingga dapat diaplikasikan pada pengobatan kanker payudara.

2. Menambah data ilmiah mengenai potensi daun kenikir sebagai agen pendamping kemoterapi doksorubisin.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kanker Payudara

Sel kanker mampu mencukupi sinyal pertumbuhan untuk dirinya sendiri. Di sisi lain sel ini tidak sensitif terhadap sinyal penghambat pertumbuhan. Akibatnya sel kanker akan terus berproliferasi. Kemampuan berproliferasi sel kanker juga diakibatkan oleh adanya enzim telomerase yang mampu menjaga integritas kromosom, sehingga membuat sel ini menjadi *immortal*. Sel kanker mampu menghindari program bunuh diri sel (apoptosis). Sel akan terus hidup dan berkembang, sehingga untuk mencukupi asupan nutrisi sel kanker akan memacu pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis). Sel kanker dapat berpindah ke jaringan lain (metastasis). Ketidakstabilan genomik pada sel kanker dapat menghasilkan mutasi acak. Memiliki kemampuan meningkatkan inflamasi. Menderegulasikan energetika seluler dalam rangka mendukung pertumbuhan sel terus menerus dan proliferasi. Sel kanker juga mampu menghindari secara aktif dari serangan dan eliminasi oleh sel imun pada tubuh (Hanahan dan Weinberg, 2011).

Kanker payudara merupakan kanker yang menyerang jaringan epitelial payudara, yaitu membran mukosa dan kelenjar. Berdasarkan estimasi Globocan (2012), jenis kanker tertinggi pada perempuan di dunia adalah kanker payudara dengan persentase kasus baru sebesar 43,1% dan penyebab

kematian tertinggi pada perempuan yaitu sebesar 12,9%. Diperkirakan 41.070 kematian akibat kanker payudara (40.610 perempuan, 460 laki-laki) akan terjadi pada tahun 2017 di Amerika Serikat (American Cancer Society, 2017). Di Indonesia, kanker payudara menduduki peringkat kedua prevalensinya setelah kanker serviks pada perempuan (Tjindarbuni dan Mangunkusumo, 2002).

Fase awal wanita yang menderita kanker payudara, 90% bersifat asimtomatik dan tidak menimbulkan nyeri. Kanker payudara biasanya didiagnosis dengan adanya benjolan kecil berukuran kurang dari 2 cm. Pada tumor ganas, benjolan ini bersifat soliter, unilateral, solid, keras, tidak beraturan dan *nonmobile*. Kadang terlihat juga adanya abnormalitas pada puting dan retraksi. Pada kasus yang lebih berat terlihat tanda-tanda seperti edema kulit, kemerahan dan rasa panas pada jaringan payudara (Dipiro *et al.*, 2005).

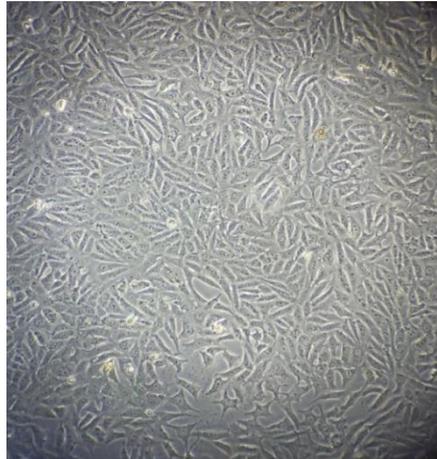
Keseimbangan antara proliferasi, diferensiasi dan kematian sel-sel kelenjar payudara berperan penting dalam proses perkembangan payudara. Gangguan dalam keseimbangan tersebut akan mengakibatkan terjadinya kanker payudara (Kumar *et al.*, 2000). Sel berubah menjadi ganas disebabkan adanya disregulasi siklus sel dan apoptosis akibat perubahan ekspresi gen (Ruddon, 2007). Sel akan menginvasi jaringan dan menyebar ke bagian tubuh di sekitarnya (Sarasin, 2003).

Meskipun mekanisme molekuler yang mempengaruhi risiko terjadinya kanker payudara dan progresi dari penyakit ini belum dapat diketahui secara

persis namun aktivasi onkogen yang disebabkan oleh modifikasi genetik (mutasi, amplifikasi atau penyusunan ulang kromosomal) atau oleh modifikasi epigenetik (ekspresi berlebihan) dilaporkan mampu mengarahkan pada terjadinya multiplikasi dan migrasi sel. Beberapa onkogen telah diketahui mempengaruhi karsinogenesis kanker payudara, diantaranya *Ras*, *c-myc*, *epidermal growth factor receptor* (EGFR, erb-B1), dan erb-B2 (HER-2/neu) (Greenwald, 2002). Mutasi atau ketiadaan *BRCA1* terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi p53 terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara (Bouker *et al.*, 2005).

2. Sel T47D

Salah satu model sel kanker payudara adalah sel kanker payudara T47D. Morfologi sel kanker payudara T47D (Gambar 1) seperti sel epitel dan merupakan sel adherent (melekat), merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003).



Gambar 1. Morfologi Sel Kanker Payudara T47D (Dokumentasi pribadi)

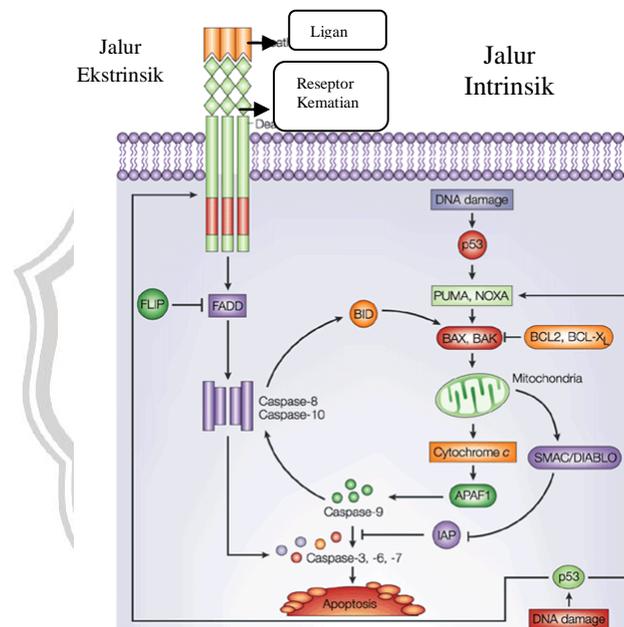
Sel ini dikulturkan dalam media DMEM + 10% FBS + 1,5% antibiotik Penicilin-Streptomisin serta 0,5% fungizone. Sel T47D adalah salah satu jenis sel kanker payudara yang sering digunakan dalam penelitian yang mengekspresikan reseptor estrogen atau ER positif (Holliday *and* Speirs, 2011) dan protein tumor suppressor p53 termutasi (Abcam, 2007), sehingga p53 tidak mampu mengikat *response element* pada DNA, hal ini menurunkan kemampuan sel dalam meregulasi siklus sel dan memacu apoptosis (Crawford *and* Bowen, 2002).

3. Apoptosis

Proses kematian sel dapat terjadi melalui dua jalur, yaitu kematian sel yang tidak terprogram (nekrosis) dan kematian yang terprogram (apoptosis). Apoptosis merupakan mekanisme fisiologi pengurangan sel yang bertujuan untuk perbaikan jaringan dan pelepasan sel yang rusak, yang dapat membahayakan tubuh (King, 2000). Proses apoptosis ditandai dengan pepadatan dan pemisahan kromatin inti, pengkerutan sel, *membrane blebbing*, dan fragmentasi sel untuk menghasilkan badan apoptosis yang

kemudian difagositosis oleh makrofag dan didegradasi dalam lisosom (Simstein *et al.*, 2003).

Jalur apoptosis (Gambar 2) dapat terjadi melalui dua jalur utama yaitu jalur ekstrinsik dan intrinsik. Jalur ekstrinsik melibatkan aktivasi reseptor kematian, Fas dan reseptor TNF, sedangkan jalur intrinsik melalui aktivasi beberapa procaspase dan pelepasan faktor apoptogenik dari mitokondria ke dalam sitoplasma (Zhang *et al.*, 2004).



Gambar 2. Jalur apoptosis (Ashkenazi, 2002)

Jalur ekstrinsik melibatkan penempelan suatu ligan (TNF, FasL) pada reseptor kematian (*death receptor*) transmembran yaitu Fas dan *tumor necrosis factor receptor* (TNFR-1) akan menginduksi terjadinya apoptosis melalui jalur ekstrinsik. Pengikatan ligan oleh reseptornya misal FasL oleh Fas akan menyebabkan trimerisasi dari reseptor Fas. Fas akan mengikat suatu protein adaptor yaitu FADD (*Fas Associating protein with death domain*) pada *death domain* yang terletak pada sisi sitoplasmik dari reseptor.

Kompleks ini disebut sebagai *Death Inducing Signaling Complex (DISC)* yang akan menyebabkan aktivasi caspase-8. Caspase 8 akan mengaktifkan caspase 3, 6 dan 7 yang merupakan caspase efektor atau eksekutor apoptosis. Caspase efektor ini secara langsung mendegradasi berbagai substrat dalam sel termasuk substrat struktural, protein regulator dalam inti sel, sitoplasma dan sitoskeleton (Singh, 2007). Aktivasi caspase-8 oleh Fas juga dapat memacu aktivasi Bid menjadi bentuk aktifnya yaitu t-Bid (*truncated Bid*), kemudian t-Bid akan menginduksi pembentukan pori pada membran luar mitokondria dan menyebabkan perubahan konformasi Bax. Protein Bax akan terlokalisasi pada membran luar mitokondria dan memacu pelepasan sitokrom c dari mitokondria (Singh, 2007).

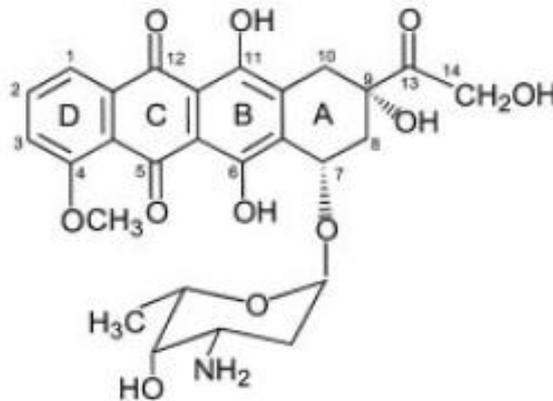
Jalur intrinsik dipacu oleh adanya stres seluler yang biasanya disebabkan oleh kerusakan DNA, radiasi UV, hipoksia, *heat shock* atau aplikasi obat sitotoksik. Ketika terjadi stres seluler, level p53 akan meningkat secara signifikan. Protein p53 merupakan faktor transkripsi yang mampu memacu ekspresi protein proapoptosis seperti Bax, IGF-BP3, DR5/KILLER, Fas/Apo-1, PIGs, PAG608, PERP, Noxa, PIDD, DRAL, Apaf1, Scotin dan p53 AIP1 (Slee *et al.*, 2004). Protein p53 memiliki 3 domain fungsional, yaitu *transactivating domain*, *sequence-specific zinc-binding domain*, dan *tetradimerization domain*. Loop L2 dan L3 (residu 163–195 dan 236–251) yang terdapat pada *zinc-binding domain*, berperan penting dalam pengikatan pada DNA dan stabilisasi protein (Schafer *et al.*, 2000).

Mekanisme yang memperantarai apoptosis akibat adanya protein proapoptosis tergantung pada jenis proteinnya. Protein Bax, PUMA, Noxa dan p53/AIP1 memacu apoptosis dengan cara bertranslokasi dari sitoplasma ke dalam mitokondria, mempengaruhi potensial membran mitokondria sehingga mitokondria akan mengeluarkan sitokrom c, Smac/Diablo, Apaf-1 dan AIF. Sitokrom c akan membentuk kompleks dengan ATP dan Apaf-1, kemudian mengaktifasi Caspase- 9 (inisiator Caspase). Caspase- 9 yang aktif akan berikatan dengan kompleks sitokrom-c, ATP, Apaf-1 membentuk apoptosome, yang akan mengaktifasi Caspase-3 (efektor apoptosis). Protein PIGs merupakan enzim yang meregulasi sistem redoks. Oksigen reaktif yang dihasilkan oleh PIGs dapat menyebabkan kerusakan mitokondria, menyebabkan mitokondria mengeluarkan sitokrom c sehingga akan menginduksi terjadinya apoptosis (Herr *and* Debatin, 2001). Adanya mutasi pada protein yang terlibat dalam apoptosis (misalnya mutasi protein p53) akan mempengaruhi perkembangan kanker payudara. Dereglulasi apoptosis meningkatkan ketahanan hidup sel dan perkembangan resistensi sel kanker payudara terhadap obat (Kumar, 2000).

4. Doksorubisin

Doksorubisin diisolasi dari *Streptomyces paucetius* var. *Caesius* (Minotti *et al.*, 2004). Doksorubisin secara luas digunakan untuk terapi berbagai jenis kanker, seperti; Hodgkin dan non Hodgkin limfoma, leukimia akut, sarkoma tulang dan jaringan lunak, neuroblastoma serta kanker payudara, paru-paru,

ovarium dan perut (Torrens *and* Simis, 2012). Struktur kimia dokсорubisin dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Dokсорubisin (Minotti *et al.*, 2004)

Mekanisme yang memperantarai kerja dokсорubisin dalam menghentikan pertumbuhan sel kanker antara lain interkalasi dengan DNA sehingga menghambat sintesis makromolekuler, membentuk radikal bebas yang menyebabkan kerusakan DNA atau peroksidasi lipid, pengikatan DNA dan alkilasi, DNA cross-linking, pemisahan untai DNA dan aktivitas helikase, berefek secara langsung pada membran, menginisiasi kerusakan DNA melalui penghambatan topoisomerase II dan induksi apoptosis sebagai respon penghambatan topoisomerase II (Gewirtz, 1999). Sebagai inhibitor topoisomerase, dokсорubisin mampu menginduksi apoptosis melalui jalur Fas pada sel kanker tiroid (Massart *et al.*, 2004). Pada Sel MCF-7 pemberian adriamisin (dokсорubisin) menyebabkan penurunan ekspresi protein Bcl-2 dan peningkatan Bax (Leung *and* Wang, 1999).

Penggunaan dokсорubisin dibatasi oleh timbulnya efek samping *cardiomyopathy* yang dapat berkembang menjadi gagal jantung kongestif

yang irreversibel (Lee and Nan, 2012). Manifestasi kardiotoxik yang ditimbulkan yaitu terjadinya gagal jantung, iskemik, hipotensi, hipertensi, edema, bradikardia dan tromboemboli (Schlattner *et al.*, 2006). Terapi doksorubisin menimbulkan efek samping seperti hepatotoksitas (El-Sayyad *et al.*, 2009), kardiotoxitas (Minotti *et al.*, 2004) dan risiko resistensi (Xu *et al.*, 2014). Pemaparan sel kanker payudara T47D dengan doksorubisin selama 24 jam menyebabkan peningkatan kadar protein kinase Akt terfosforilasi tergantung pada dosis dan waktu pemaparan (Li *et al.*, 2005). Protein kinase Akt yang terfosforilasi memainkan peranan dalam menghambat apoptosis dengan memodulasi aktivitas dari protein Bcl-2 dan Caspase-9 serta BAD (Flusberg *et al.*, 2001).

5. **Tanaman Kenikir**

Tanaman kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) merupakan tanaman asli Amerika Utara dan telah menyebar ke berbagai belahan dunia termasuk negara-negara subtropis dan tropis (Melchert, 1990). Di Sumatra tanaman ini dikenal dengan ulam raja (Hutapea dkk., 2001). Kenikir adalah tanaman yang berasal dari keluarga Asteraceae, merupakan tanaman perdu dengan tinggi antara 75 hingga 100 cm. Batangnya tegak, segi empat, beralur membujur, dan memiliki bau yang khas. Tanaman ini memiliki daun majemuk, bersilang berhadapan, berbagi menyirip, ujung runcing, tepi rata, panjang 15-25cm, dan berwarna hijau. Bunganya majemuk bentuk bongkol, berada di ujung batang dengan panjang tangkai \pm 25cm, mahkota terdiri dari 8 helai mahkota yang panjangnya \pm 1cm, berwarna merah, benang sari berbentuk tabung, kepala

sari coklat kehitaman, putik berambut, hijau kekuningan, merah. Buahnya keras, berbentuk jarum, ujung berambut, saat masih muda berwarna hijau setelah tua berwarna coklat, sedangkan bijinya keras, kecil, berbentuk jarum, panjang \pm 1cm, berwarna hitam. Akar tunggang dan berwarna putih (Backer *and* Bakhulzen, 1965). Tanaman kenikir dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Tanaman Kenikir (Dokumentasi pribadi)

a. Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman kenikir adalah sebagai berikut (Backer *and* Bakhulzen, 1965; Simpson, 2006) :

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Cosmos</i>
Spesies	: <i>Cosmos caudatus</i> , Kunth

b. Kandungan Kimia Daun Kenikir

Daun kenikir mengandung saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri (Hutapea dkk., 2001). Daun kenikir segar mengandung total fenol 1,52 mg GAE/g dan kadar flavonoid sebesar 143 mg/100 g dengan kandungan flavonoid jenis kuersetin paling tinggi sebesar 51,3 mg/100 g (Andarwulan *et al.*, 2010). Ekstrak metanolik daun kenikir terbukti mengandung senyawa flavonoid dan glikosida kuersetin yaitu quercetin 3-*O*- β -D-arabinofuranoside, quercetin 3-*O*- α -D-rhamnoside, dan quercetin 3-*O*- β -D-glukoside (Abas *et al.*, 2003).

c. Khasiat Daun Kenikir

Daun kenikir berpotensi sebagai obat tradisional antara lain sebagai antibakteri, antifungi, antiosteoporosis, antihipertensi, antidiabetik dan memiliki efek antioksidan yang tinggi (Bunawan *et al.*, 2014). Daun kenikir dapat menurunkan terjadinya stres oksidatif berkaitan dengan kandungan antioksidan yang tinggi didalamnya (Shui *et al.*, 2005). Ekstrak metanolik daun kenikir terbukti memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC_{50} 344,91 μ g/ml serta memiliki kemungkinan dalam memacu apoptosis (Pebriana dkk., 2008). Fita (2016) menyebutkan bahwa kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dengan doksorubisin mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis kuat pada sel kanker payudara T47D.

F. Landasan Teori

Ekstrak metanolik daun kenikir terbukti memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan IC_{50} 344,91 $\mu\text{g/ml}$ serta memiliki kemungkinan dalam memacu apoptosis yang diduga disebabkan oleh senyawa flavonoid dan glikosida kuersetin yang dikandungnya (Pebriana dkk., 2008). Kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doksorubisin mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis pada sel kanker payudara T47D (Fita, 2016). Abas *et al.*, (2003) menyebutkan bahwa ekstrak metanolik daun kenikir mengandung flavonoid dan glikosida kuersetin. Senyawa flavonoid diketahui mampu menginduksi terjadinya apoptosis 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 mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara MDA-MB-231 melalui jalur mitokondria dan caspase-3 (Chien *et al.*, 2009). Sedangkan doksorubisin sebagai inhibitor topoisomerase, mampu menginduksi apoptosis melalui jalur Fas pada sel kanker tiroid (Massart *et al.*, 2004). Pada Sel MCF-7 pemberian adriamisin (doksorubisin) menyebabkan penurunan ekspresi protein Bcl-2 dan peningkatan Bax (Leung and Wang, 1999). Proses kematian sel melalui jalur apoptosis digunakan sebagai indikasi selektifitas dan menjadi titik tangkap yang penting dalam pengobatan kanker. Penelitian ini berfokus pada pengamatan aktivitas sitotoksik ekstrak metanolik daun kenikir ketika dikombinasikan dengan doksorubisin, dengan mengamati pengaruh kombinasi tersebut pada induksi

apoptosis sel kanker payudara T47D dibandingkan dengan perlakuan tunggalnya masing- masing.

G. Hipotesis

Kombinasi ekstrak metanolik daun kenikir dan doksorubisin berpengaruh terhadap induksi apoptosis sel kanker payudara T47D.

