

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Memasuki tahun terakhir ini, masalah kesehatan menjadi hal utama yang harus di perhatikan masyarakat luas. Menurut data GLOBOCAN (IARC) tahun 2012, kanker payudara merupakan penyakit dengan persentase 43,3%, dan persentase kematian sebesar 12,9%. Nilai tersebut merupakan angka kejadian tertinggi dari pada kanker yang menyerang organ lain, kanker payudara mengalami peningkatan pada tahun 2010 hingga 2013 terjadi peningkatan yang signifikan angka kematian pada kasus kanker payudara (DepKes RI, 2015). Kanker payudara juga menempati posisi kedua (17,77 %) setelah kanker leher rahim (28,66 %) (Tjindarbumiand Mangunkusumo, 2002).

Pengobatan terhadap kanker dapat dilakukan melalui operasi, radiasi atau dengan memberikan kemoterapi, tetapi yang sering dilakukan pada pasien kanker payudara adalah kemoterapi dengan mekanisme menghambat pertumbuhan sel kanker menggunakan senyawa kimia tertentu. Umumnya kemoterapi dilakukan dengan kombinasi jenis obat untuk meningkatkan efektivitas pengobatannya seperti dokorubisin (Dipiro, 2009). Doksorubisin dalam dosis tinggi beresiko menimbulkan kardiotoxicitas yang dapat menyebabkan kematian. Kardiotoxicitas doksorubisin ini berkorelasi positif dengan dosis dan lama pemberian (Singal *et al.*, 2001, Schlattner *et al.*, 2006). Pemberian obat tersebut memiliki efek samping terhadap penggunaannya (Tjay dan Rahardja, 2002).

Efek samping yang ditimbulkan oleh doksorubisin mendorong untuk dikembangkannya pengobatan dengan mengkombinasi bahan sintetik bersama agen kemoproventif yang memiliki efektivitas sebagai antikanker salah satunya tanaman sukun. Penelitian yang telah dilakukan oleh Widowati (2017), menyebutkan bahwa ekstrak metanol daun sukun mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara, serta telah di sebutkan bahwa tumbuhan dengan genus *artocarpus* mempunyai kandungan senyawa kimia flavonoid yang mempunyai aktivits sitotoksik (Hakim, 2011). Kulit batang sukun menurut Witantri dkk (2015) mempunyai senyawa flavonoid, flavonoid yang terkandung pada ekstrak dietil eter kulit batang sukun memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D (Arung, *et al.*, 2009). Flavonoid bersifat polar sehingga dapat larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama seperti metanol, terbukti pada penelitian sebelumnya bahwa ekstrak metanol kulit batang kluwih yang mengandung flavonoid mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (Harborne, 1996 ; Ichsan dan Suhendi 2012).

Flavonoid yang terkandung mampu meng-aktivasi protein p53 dan gen-gen targetnya. Penelitian ini menggunakan sel T47D yang merupakan jenis sel kanker yang mengalami mutasi pada gen p53 sehingga tidak mampu melakukan pengendalian siklus sel dan terjadi hambatan dalam apoptosis sel. Sel non- line tumor yang diinkubasi dengan flavonoid akan terjadi akumulasi protein P53 dan apoptosis sel, apoptosis terjadi pada fase G2/M pada siklus sel (Plaumann, 1996).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kombinasi senyawa bahan alam dengan doksorubisin mampu meningkatkan aktivitas sitotoksik dari doksorubisin

pasa sel kanker payudara. Fita dkk (2015) menyebutkan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun kenikir dan doksorubisin mampu menghasilkan efek sinergis dan memacu apoptosis terhadap sel kanker payudara T47D. Kombinasi antara metanolik kulit batang sukun dengan doksorubisin diharapkan menurunkan dosis penggunaan doksorubisin, sehingga mampu meminimumkan munculnya efek samping. Sehingga perlu dilakukan penelitian uji sitotoksisitas kombinasi antara ekstrak kulit batang sukun dengan doksorubisin terhadap sel kanker payudara terutama sel T47D.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan di atas, dapat disampaikan rumusan masalah yaitu, apakah kombinasi ekstrak metanolik kulit batang sukun dan doksorubisin mampu menghasilkan efek sinergis terhadap sel T47D?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sinergis kombinasi ekstrak metanolik kulit batang sukun dan doksorubisin terhadap sel T47D.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

1. Membuktikan adanya efek sitotoksik dari ekstrak metanolik kulit batang sukun terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Memberikan informasi tambahan tentang kulit batang sukun untuk dijadikan sebagai agen kemopreventif dalam pengobatan kanker payudara.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kanker

Kanker didefinisikan sebagai suatu kondisi sel yang telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normalnya sehingga mengalami pertumbuhan yang tidak normal, cepat tidak terkendali dan berusaha menghindari kematiannya (apoptosis), sel kanker mengabaikan perintah tubuh untuk berhenti berkembangbiak, sel-sel kanker terbentuk dari sel normal dalam suatu proses rumit yang disebut transformasi. Tahapan transformasi yaitu inisiasi (terjadi mutagenesis), promosi (kerusakan gen) dan perkembangan (Diananda, 2009).

Kanker terjadi karena kerusakan struktur genetik yang menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol, kerusakan gen dapat disebabkan karena radiasi, radikal bebas atau gen penekan tumor (Silalahi, 2006). Kerusakan sel bisa disebabkan oleh berbagai hal, antara lain infeksi virus, paparan senyawa karsinogenik (senyawa kimia yang dapat menimbulkan proses pembentukan sel kanker), paparan radiasi sinar radioaktif (sinar X dan ultra violet), faktor genetik dan gaya hidup (Mangan, 2003).

Kanker menunjukkan adanya perubahan ukuran sel dan merupakan hasil akhir dari proses-proses yang berpengaruh pada kehidupan sel tersebut seperti proliferasi, diferensiasi dan kematian sel. Sel kanker seringkali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi lebih cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya (King, 2000).

Sel kanker dapat berada dalam tiga keadaan yaitu sedang membelah (siklus proliferasi), dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan secara

permanen tidak membelah (Nafrialdi dan Gan, 1995). Sel kanker yang sedang membelah terdapat dalam 4 (empat) yaitu :

a. Fase Pasca Mitosis (G1)

Fase ini dipersiapkan suatu interval dalam proses pembelahan sel, dan dimulai sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) (Mulyadi, 1997). Pada fase G1, sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim, dan sebagainya (Sukardja, 2000).

b. Fase Sintesis DNA (S)

Fase ini merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Dalam fase S berlangsung perbaikan DNA yang dapat untuk mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase ini berlangsung kira-kira 6-8 jam (Mulyadi, 1997).

c. Fase Pra Mitosis (G2)

Sel yang telah masuk dalam fase pra mitosis ini memiliki ciri-ciri : sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada fase lain dan masih berlangsung sintesis RNA dan protein (Nafrialdi dan Gan, 1995).

d. Fase Mitosis

Sewaktu mitosis berlangsung (fase M) sintesis protein dan RNA berkurang secara tiba-tiba, berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristiknya yang sama induknya (Nafrialdi dan Gan, 1995).

Pengobatan kanker dilakukan dengan cara pembedahan (operasi), penyinaran (radioterapi), peningkatan daya tahan tubuh (imunoterapi) (Mangan,

2003). Operasi yaitu pengambilan daerah yang terserang kanker sedangkan radiasi yaitu penyinaran dengan sinar x berkekuatan tinggi yang dapat dilakukan secara internal maupun eksternal (Riono, 1999). Terapi hormon (dengan cara menggunakan bahan-bahan alami yang mampu merangsang sistem kekebalan tubuh agar mampu melawan sel kanker) dan pemberian obat antineoplastik atau antikanker (kemoterapi) (Kardinan, 2003). Obat antikanker seharusnya dapat membunuh sel kanker tanpa membahayakan jaringan sel normal. Penggunaan obat perlu dipertimbangkan untuk mendapatkan efek terapi yang baik (Katzung, 1997).

2. Kanker Payudara

Kanker payudara adalah tumor ganas yang tumbuh di dalam jaringan payudara, merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh perubahan sifat normal sel yaitu sel menjadi tumbuh dan membelah tanpa terkendali (IARC, 2013). Kanker payudara adalah tumor ganas yang berasal dari kelenjar payudara, termasuk saluran kelenjar air susu dan jaringan penunjangnya yang tumbuh infiltratif, destruktif, serta dapat bermetastase (Suryana, 2008). Keganasan kanker payudara berasal dari sel kelenjar, saluran kelenjar dan jaringan penunjang payudara, tidak termasuk kulit payudara (Elwood, *et al.*, 1993).

Kanker payudara pada 90% wanita pada fase awal 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 dkk., 2005).

Hormon yang paling berperan dalam timbulnya kanker payudara adalah esterogen, terutama 17β -estradiol. Esterogen dapat memacu ekspresi protein-protein yang berperan dalam *cell cycle progression*, seperti Cyclin D1, CDK4, Cyclin E dan CDK2. Aktivasi reseptor estrogen juga berperan dalam aktivasi beberapa onkoprotein seperti Ras, Myc, dan Cyclin D1 (Foster *et al.*, 2001). Pada kanker payudara ditemukan ekspresi Bcl-2 yang berlebihan (King 2000, Davis *et al.*, 2003).

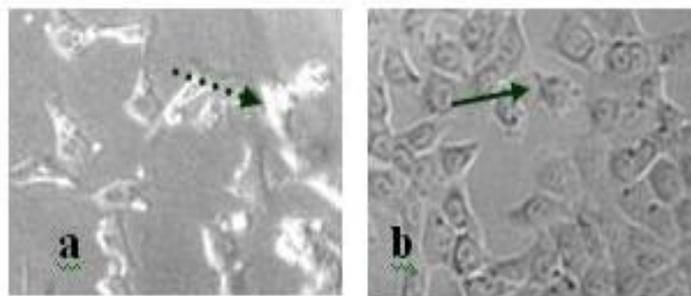
Penyebab spesifik kanker payudara masih belum diketahui, tetapi terdapat banyak faktor yang diperkirakan mempunyai pengaruh terhadap terjadinya kanker payudara diantaranya:

- a. Faktor reproduksi, karakteristik reproduktif yang berhubungan dengan resiko terjadinya kanker payudara adalah nuliparitas, menarche pada umur muda, menopause pada umur lebih tua, dan kehamilan pertama pada umur tua.
- b. Penggunaan hormon, hormon eksogen berhubungan dengan terjadinya kanker payudara.
- c. Radiasi, dengan radiasi ionisasi selama atau sesudah pubertas meningkatkan terjadinya risiko kanker payudara.
- d. Riwayat keluarga dan faktor genetik, terdapat peningkatan risiko keganasan ini pada wanita yang keluarganya menderita kanker payudara (Anonima, 2007).

Ada beberapa Jenis kanker payudara diantaranya adalah sel T47D, sel MCF-7, sel MDA-MB-231, sel MB-MDA-468, sel BT-20, dan sel BT-549 (Yang et al, 2010).

3. Sel T47D

Sel T47D merupakan *continous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun (Schafer *et al*, 2000). *Continous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penangannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan frozen stock jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003). Sel T47D mengekspresikan gen P53 yang termutasi sehingga gen P53 tidak dapat berikatan dengan DNA sekuen. Hal ini menyebabkan hilangnya kemampuan gen P53 untuk regulasi siklus sel. Mutasi gen P53 ini pun mengakibatkan tidak dapat meregulasi protein proapoptosis yang diatur oleh P53 seperti *bax* dan *puma* (Gewies, 2003). Berikut ini Gambar 1 menunjukkan morfologi sel T47D.



Gambar 1. Morfologi sel T47D setelah perlakuan Ekstrak 60 µg/mL (a) dibanding dengan sel tanpa perlakuan/kontrol sel (b). Dilakukan dengan menginkubasi selama 24 jam. Sel hidup (→), sel yang telah berubah morfologi (---→).

Sel kanker payudara T47D mengekspresikan protein 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 berkurang bahkan hilangnya kemampuan p53 untuk regulasi *cell cycle*. Sel T47D merupakan sel kanker payudara ER/PR-positif (Schafer *et al.*, 2000). Induksi estrogen eksogen mengakibatkan peningkatan proliferasinya (Verma *et al.*, 1998).

4. Doksorubisin

Doksorubisin adalah agen kemoterapi yang paling sering digunakan untuk terapi berbagai jenis kanker seperti leukemia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium (Childs *et al.*, 2002). Doksorubisin termasuk obat golongan antrasiklin yang merupakan substrat Pgp (Mechetner *et al.*, 1998; Wong *et al.*, 2006)

Mekanisme toksisitas doksorubisin telah banyak diketahui. Toksisitas kronis doksorubisin kemungkinan diperantarai oleh konversi metabolik doksorubisin menjadi doxorubicinol yang melibatkan berbagai enzim antara lain karbonil reduktase. Mekanisme utama toksisitas doksorubisi terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak makromolekul sel (Minotti *et al.*, 2004). Terjadinya cardiomyopathy pada pemakaian doksorubisin kemungkinan juga terjadi akibat peningkatan produksi oksidan di jantung. Mitokondria diperkirakan merupakan target utama kardiotoksisitas akibat doksorubisin. Mitokondria elektron tunggal ditransfer ke doksorubisin sehingga menyebabkan peningkatan pembentukan

radikal oksigen melalui autooksidasi doksorubisin semiquinon. Hidrogen peroksida juga merupakan penyebab stres oksidatif dan bertanggungjawab pada induksi apoptosis oleh doksorubisin pada sel endotelial dan sel otot jantung. Lebih lanjut, mitokondria berperan dalam pengaturan apoptosis melalui pembebasan sitokrom c (Bruton *et al.*, 2005).

Selain adanya efek samping penggunaan doksorubisin juga menunjukkan turunnya efikasinya pada terapi kanker karena adanya fenomena resistensi obat. Mekanisme yang menyebabkan resistensi doksorubisin adalah adanya overekspresi PgP yang menyebabkan doksorubisin dipompa keluar sel dan konsentrasi doksorubisin dalam sel turun. Perubahan biokimiawi lain pada sel yang resisten doksorubisin antara lain peningkatan aktivitas glutathion peroksidase, peningkatan aktivitas maupun mutasi topoisomerase II, serta peningkatan kemampuan sel untuk memperbaiki kerusakan DNA (Bruton *et al.*, 2005).

Efek samping yang timbul segera setelah pengobatan dengan doksorubisin adalah mual, immunosupresi dan aritmia yang sifatnya reversibel serta dapat dikontrol dengan obat-obat lain. Efek samping yang paling serius akibat pengobatan dengan doksorubisin dalam jangka waktu yang lama adalah *cardiomyopathy* yang diikuti dengan gagal jantung (Tyagi *et al.*, 2004). Selain adanya efek samping penggunaan doksorubisin juga menunjukkan turunnya efikasinya pada terapi kanker karena adanya fenomena resistensi obat.

Mekanisme yang menyebabkan resistensi doksorubisin adalah adanya overekspresi PgP yang menyebabkan doksorubisin dipompa keluar sel dan konsentrasi doksorubisin dalam sel turun. Perubahan biokimiawi lain pada sel

5. Tanaman Sukun

a. Morfologi tanaman

Tanaman sukun (Gambar 3) mempunyai pohon dengan tinggi 10-25 m. Batang tegak bulat, percabangan simpodial, bergetah, permukaan kasar, coklat. Daun tunggal, berseling, lonjong, ujung runcing, tepi bertoreh, panjang 50-70 cm, lebar 25-50 cm, pertulangan menyirip, tebal, permukaan kasar, hijau. Bunga tunggal berumah 1, di ketiak daun, bunga jantan silindris, panjang 10-20 cm, kuning bunga betina bulat, diameter 10-20 cm, berduri lunak, hijau, Biji bentuk ginjal, panjang 3-5 cm, hitam, Akar tunggang coklat (Hutapea, 1991).

Mengenai buah sukun atau *Artocarpus communis* ternyata sudah banyak dilakukan diantaranya dapat digunakan sebagai antioksidan, antiaterogenik, antiplasmodia dan anti TBC, mencerahkan kulit, antelmintik, dan mampu menghambat alfa baik amilase maupun glukosidase (Sikarwar *et al.*, 2014). serta dapat mengatasi masalah hiperkolesterol (Niu *et al.*, 2015).

b. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi sukun (*Artocarpus Communis*) adalah sebagai berikut, Tanaman sukun dapat dilihat pada gambar 3.

Kingdom : Plantae
Divisio : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Ordo : Urticales

Familia : Moraceae
Genus : Artocarpus
Spesies : *Artocarpus communis*



Gambar 3. Tanaman sukun (Adinugraha dkk, 2004)

c. Kandungan Kimia

Tanaman sukun mengandung saponin, asam hidrosianat, asitilkolin, tanin, riboflavin, fenol, (Syah, *et al*, 2006). Buah dan daun sukun mengandung flavonoid granyl, artocarpin dan siklokumunol (Witantri, dkk, 2015). Senyawa yang diduga sebagai antikanker adalah flavonoid. Pemilihan metanol sebagai cairan penyari dalam proses ekstraksi ini dikarenakan metanol dapat menarik senyawa golongan fenolik secara optimum (Faujan *et al.*, 2009). Kelarutan senyawa fenolik semakin meningkat dengan menggunakan metode perkolasi (Santos-Buelga dan Williamson, 2003).

d. Kegunaan Tanaman

Beberapa genus *Artocarpus* dapat digunakan digunakan sebagai obat luar pada penyembuhan murus darah dan penyakit kulit (Heyne, 1987), anti bakteri (Khan *et al*, 2003), anti platelet (Wang *et al*, 2006),

anti fungal (Jayasinghe *et al*, 2004), antimalaria (Widyawaruyanti *et al*, 2007). Senyawa yang berpotensi sebagai aktivitas antikanker yaitu flavonoid pada Ekstrak dietileter dari kayu sukun berpotensi melawan sel-sel kanker payudara T47D dengan mengurangi viabilitasnya, mengubah morfologi nukleusnya, serta menginduksi terjadinya apoptosis atau kematian sel secara terprogram (Arung *et al.*, 2009).

F. Landasan Teori

Secara Fitokimia daun dan kayu sukun mempunyai senyawa flavonoid granyl, artocarpin dan siklokumunol (Witantri, dkk, 2015), serta telah disebutkan bahwa tumbuhan dengan genus artocarpus mempunyai kandungan senyawa kimia flavonoid (Hakim, 2011). Flavonoid bersifat polar sehingga dapat larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama seperti metanol, terbukti pada penelitian sebelumnya bahwa ekstrak metanol kulit batang kluwih yang mengandung flavonoid mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara (Harborne, 1996 ; Ichsan dan Suhendi 2012).

Flavonoid yang terkandung pada ekstrak dietil kulit sukun memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D (Arung, *et al.*, 2009). Flavonoid yang terkandung mampu meng-aktivasi protein p53 dan gen-gen targetnya. Penelitian ini menggunakan sel T47D yang merupakan jenis sel kanker yang mengalami mutasi pada gen p53 sehingga tidak mampu melakukan pengendalian siklus sel dan terjadi hambatan dalam apoptosis sel. Sel non- line tumor yang diinkubasi dengan flavonoid akan terjadi akumulasi protein P53 dan apoptosis sel, apoptosis terjadi pada fase G2/M pada siklus sel (Plaumann, 1996).

Doksorubisin melibatkan ikatan dengan DNA melalui interkalasi diantara pasangan basa serta menghambat sintesis DNA dan RNA melalui perusakan template dan halangan sterik. Mekanisme aksi yang lain melibatkan ikatan dengan lipid membran sel, hal ini akan mengubah berbagai fungsi selular dan berinteraksi dengan topoisomerase II membentuk kompleks pemotong DNA (Rock dan DeMichele, 2003). Doksorubisin juga mampu menurunkan ekspresi Bcl-2 dengan cara menginduksi pelepasan sitokrom c dari mitokondria ke sitoplasma, aktivasi Caspase 9 dan dapat menginduksi apoptosis dan dapat mengurangi ekspresi mutan p53 (Mulyati, 2017).

Beberapa penelitian kombinasi bahan senyawa alam dan doksorubisin telah terbukti mampu meningkatkan aktivitas sitotoksik doksorubisin terhadap sel kanker payudara, pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa kombinasi ekstrak metanol daun kenikir dan doksorubisin mampu menghasilkan efek sinergis dan memacu apoptosis terhadap sel kanker payudara T47D (Fita dkk, 2015).

G. Hipotesis

Kombinasi ekstrak metanolik kulit batang sukun dan doksoru mampu menghasilkan efek sinergis pada sel T47D.