

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kanker serviks merupakan keganasan tersering pada wanita dengan angka kejadian sebesar 16 kasus per 100.000 populasi di tahun 2012 (Globocan, 2012). Di Indonesia, insidensi kanker serviks mencapai 13.762 kasus atau 8,8% dari total penderita kanker (IARC, 2008). Kondisi ini menunjukkan bahwa diperlukan pengembangan terhadap terapi kanker serviks.

Kemoterapi merupakan salah satu jenis pengobatan yang dapat dilakukan untuk mengobati kanker serviks. Secara umum, kombinasi obat lebih sering diberikan pada pengobatan kanker serviks, agar memperoleh hasil yang optimum. Namun, kemoterapi ini sering menimbulkan efek samping yang kompleks. Obat doksorubisin merupakan agen kemoterapi golongan antrasiklin yang memiliki aktivitas antikanker spektrum luas dan telah digunakan pada berbagai jenis kanker salah satunya kanker serviks (Childs, *et al.*, 2002). Penggunaan doksorubisin dapat menyebabkan gangguan hati pada seseorang yang belum memiliki riwayat penyakit hati. Selain itu kemoterapi juga menyebabkan efek samping sementara seperti mual, muntah, lemah, dan rambut rontok. Pengobatan ini juga menyebabkan proses produksi sel darah putih, sel darah merah dan trombosit terganggu, serta terjadi penghentian siklus menstruasi secara permanen atau sementara (Anonim, 2007)

Indonesia merupakan daerah beriklim tropis sehingga banyak tanaman yang tumbuh di negara ini. Banyak tanaman yang telah terbukti berkhasiat sebagai

antikanker salah satunya adalah temu kunci. Tanaman temu kunci adalah salah satu bahan herbal yang memiliki potensi sebagai agen kemoterapi. Salah satu kandungan utama yang berefek sitotoksik adalah Panduratin A (Handoko, dkk., 2011). Senyawa panduratin A merupakan derivat kalkon yang menunjukkan aktivitas penurunan level protein *Cyclin* D1 dan *Cyclin* E. Penggunaan panduratin A juga menurunkan regulasi CDK2, CDK4, dan CDK6. Penurunan kompleks cyclin-CDK dapat menghambat fosforilasi pRb sehingga E2F tidak aktif sebagai factor transkripsi (Yun, *et al.*, 2006). Berdasarkan penelitian Ujiantari (2010) terbukti bahwa ekstrak etanolik rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dapat meningkatkan aktivitas agen kemoterapi doxorubicin terhadap sel T47D.

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti ingin mengetahui efek ekstrak etanolik temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) terhadap aktivitas sitotoksik doxorubicin pada sel kanker serviks HeLa, dengan melihat bahwa ekstrak temu kunci memiliki potensi yang baik untuk dikembangkan sebagai agen ko-kemoterapi doxorubicin pada pengobatan kanker serviks. Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian mengenai aktivitas antikanker temu kunci dalam meningkatkan sensitivitas doxorubicin pada sel kanker serviks HeLa. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan efek sinergis, hasil yang lebih efektif dibandingkan ketika diberikan dalam bentuk agen tunggal doxorubicin atau ekstrak etanolik temu kunci (*Boesenbergia pandurata*).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas dapat dirumuskan permasalahannya adalah :

1. Apakah kombinasi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan doksorubisin pada sel kanker serviks HeLa mampumenghasilkan efek sitotoksik yang sinergis berdasarkan nilai *Combination Index* (CI) yang diperoleh?
2. Berapakah konsentrasi yang bisa menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis dari kombinasi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan doksorubisin pada sel kanker serviks HeLa?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Membuktikan efek sitotoksik yang sinergis kombinasi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan doksorubisin pada sel kanker serviks HeLa dilihat dari nilai *Combination Index* (CI) yang diperoleh.
2. Menentukan konsentrasi yang mampu menghasilkan efek sitotoksik sinergis dari kombinasi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dan doksorubisin pada sel kanker serviks HeLa.

D. Manfaat Penelitian

1. Memberi bukti ilmiah mengenai efek sitotoksik yang sinergis kombinasi ekstrak rimpang temu kunci dengan doksorubisin khususnya pada sel kanker serviks HeLa

2. Menambah informasi bagi pengembangan ko-kemoterapi ekstrak etanolik rimpang temu kunci dalam meningkatkan aktivitas dari doksorubisin untuk pengobatan sel kanker serviks HeLa.

E. Tinjauan Pustaka

1. Kanker Serviks dan Sel Kanker HeLa

Kanker serviks atau leher rahim adalah tumor ganas primer yang berasal dari sel epitel skuamosa. Kanker serviks merupakan kanker yang terjadi pada serviks atau leher rahim, suatu daerah pada organ reproduksi wanita yang merupakan pintu masuk ke arah rahim. Kanker serviks biasanya menyerang wanita berusia 35-55 tahun. Sebanyak 90% dari kanker serviks berasal dari *sel skuamosa* yang melapisi serviks dan 10% sisanya berasal dari *sel kelenjar* penghasil lendir pada saluran servikal yang menuju ke rahim (Notodiharjo, 2002).

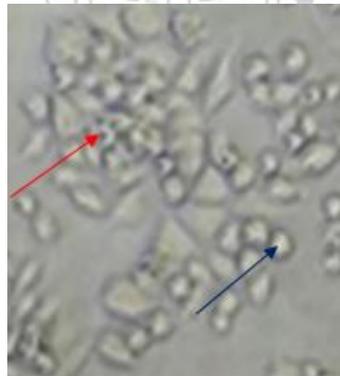
HeLa adalah sel kanker serviks akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel serviks normal. Sel kanker serviks yang diinfeksi HPV diketahui mengekspresikan 2 onkogen, yaitu E6 dan E7. Protein E6 dan E7 terbukti dapat menyebabkan sifat imortal pada kultur primer keratinosit manusia, namun sel yang imortal ini tidak bersifat tumorigenik hingga suatu proses genetik terjadi. Jadi viral onkogen tersebut tidak secara langsung menginduksi pembentukan tumor, tetapi menginduksi serangkaian proses yang pada akhirnya dapat menyebabkan sifat kanker (Goodwin dan De Mario, 2000). Protein E6 dan E7 dari HPV memodulasi protein seluler yang mengatur daur sel. Protein E6

berikatan dengan tumor suppressor protein p53 dan mempercepat degradasi p53 yang diperantarai ubiquitin. Protein E6 juga menstimulasi aktivitas enzim telomerase. Protein E7 dapat mengikat bentuk aktif terhipofosforilasi dari p105Rb dan anggota lain dari famili Rb. Ikatan ini menyebabkan destabilisasi Rb dan pecahnya kompleks Rb/E2F yang berperan menekan transkripsi gen yang diperlukan untuk cell cycle progression (DeFillippis *et al.*, 2003). Sebagian besar sel kanker leher rahim termasuk sel HeLa, mempunyai gen p53 dan p105Rb dalam bentuk wild type. Jadi gen pengatur pertumbuhan yang aktif dalam sel normal ini juga terdapat dalam sel kanker leher rahim. Namun aktivitasnya dihambat oleh ekspresi protein E6 dan E7 dari HPV (Goodwin dan De Mario, 2000). Sel HeLa telah mengalami Transformasi akibat infeksi human papillomavirus 18 (HPV 18) dan berbeda dengan sel leher Rahim yang normal (LabWork, 2000)

Sel HeLa dapat tumbuh dengan agresif dalam media kultur. Media yang digunakan adalah media RPMI 1640-serum. Media tersebut mengandung nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan, yaitu asam amino, vitamin, garam-garam anorganik, dan glukosa. Serum yang ditambahkan mengandung hormon-hormon yang mampu memacu pertumbuhan sel. Albumin berfungsi sebagai protein transport, lipid diperlukan untuk pertumbuhan sel, dan mineral berfungsi sebagai kofaktor enzim (Freshney, 1986).

Kultur sel HeLa atau HeLa *cell line* merupakan *continuous cell line* yang diturunkan dari sel epitel kanker leher rahim (cervix) seorang wanita penderita kanker leher rahim bernama Henrietta Lacks yang meninggal akibat

kanker pada tahun 1951 (Doyle dan Griffiths, 1998). Kultur sel ini memiliki sifat semi melekat dan digunakan sebagai model sel kanker dan untuk mempelajari sinyal transduksi seluler (Goodwin dan De Mario, 2000). Sel HeLa ini cukup aman dan merupakan sel manusia yang umum digunakan untuk kepentingan kultur sel. Sel ini diperlakukan sebagai sel kanker yang dipercaya berasal dari sel kanker leher rahim Ms.Lacks, namun klasifikasi dari sel ini masih diperdebatkan. HeLa bersifat imortal yang tidak dapat mati karena tua dan dapat membelah secara tidak terbatas selama memenuhi kondisi dasar bagi sel untuk tetap hidup masih ada. Strain-strain baru dari sel HeLa telah dikembangkan dalam berbagai macam kultur sel, tapi semua sel HeLa berasal dari keturunan yang sama. Morfologi sel HeLa dapat dilihat pada gambar 1.

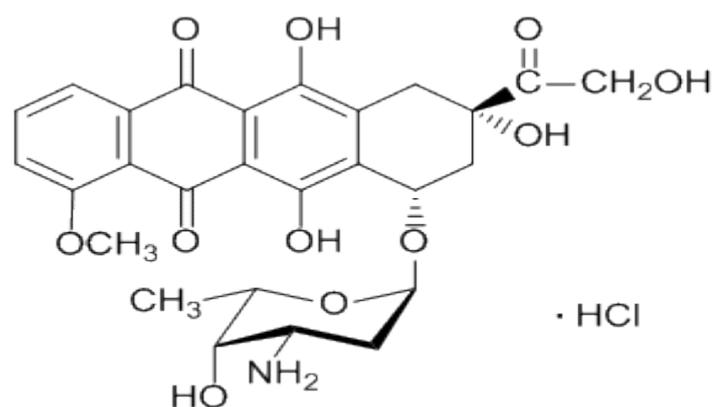


Gambar 1. Morfologi sel HeLa. Sel HeLa dengan kepadatan $1 \times 10^4/100\mu\text{l}$ di inkubasi pada suhu 37° dengan perbesaran 100x. Sel hidup (\longrightarrow), Sel mati (\longrightarrow), (Dokumen pribadi).

2. Doksorubisin

Doksorubisin merupakan golongan antibiotik antrasiklin sitotoksik yang diisolasi dari *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Namun, doksorubisin tidak digunakan sebagai antimikroba walaupun termasuk dalam golongan antibiotik. Doksorubisin telah digunakan secara luas untuk mengobati berbagai jenis kanker termasuk kanker serviks (Wong *et al.*, 2006). Senyawa ini menunjukkan kemampuan yang kuat dalam melawan kanker dan telah digunakan sebagai obat kemoterapi kanker (Rock dan DeMichele, 2003).

Doksorubisin memiliki aktivitas antineoplastik dan spesifik untuk fase S dalam siklus sel. Mekanisme aktivitas antineoplastiknya menurut (Rock dan DeMichele, 2003) menerangkan bahwa aksi doksorubisin melibatkan ikatan dengan DNA melalui interkalasi diantara pasangan basa serta menghambat sintesis DNA dan RNA melalui pengacauan *template* dan halangan sterik. Selain itu, mekanisme aksi lainnya adalah melalui ikatan dengan lipid membran sel, yang dapat mengubah berbagai fungsi selular dan berinteraksi dengan topoisomerase II membentuk kompleks pemotong DNA. Struktur doksorubisin tersaji pada gambar 2.



Gambar 2. Struktur Doksorubisin (Chen *et al.*, 2006).

Doksorubisin telah digunakan pada beberapa pengobatan jenis tumor seperti kanker serviks, kanker payudara, esophagus, osteosarkoma, Kaposi's sarkoma, sarkoma jaringan lunak, limfoma Hodgkin dan non-Hodgkin baik dalam aplikasi tunggal maupun kombinasi dengan beberapa agen antitumor lainnya (Chen *et al.*, 2006). Aplikasi doksorubisin yang telah digunakan secara klinis untuk berbagai jenis tumor ini dibatasi oleh timbulnya efek samping (Tyagi *et al.*, 2004).

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). Berdasarkan hasil penelitian retrospektif diketahui bahwa toksisitas kardiak akibat pemberian doksorubisin merupakan efek samping yang bergantung pada dosis. Mekanisme yang memperantarai toksisitas kardiak tersebut diduga disebabkan oleh terbentuknya spesies oksigen reaktif, meningkatnya kadar anion superoksida dan pengurasan ATP yang kemudian menyebabkan perlukaan jaringan kardiak (Wattanapitayakul *et al.*, 2005).

Permasalahan yang sering timbul dalam terapi kanker terutama kanker serviks menggunakan doksorubisin adalah resistensi obat dan menjadi penyebab kegagalan terapi kanker serviks (Mechetner *et al.*, 1998). Resistensi ini diperantarai oleh berbagai mekanisme antara lain mutasi pada target obat, kegagalan inisiasi apoptosis, dan pengeluaran obat oleh protein transporter

pada membran sel (Notarbartolo *etal.*, 2005). Pengeluaran obat yang disebabkan oleh adanya pompa *efflux* Pgp menjadi salah satu sebab utama resistensi obat ini (Mechetner *etal.*, 1998).

Doksorubisin termasuk obat golongan antrasiklin yang merupakan substrat Pgp (Mechetner *etal.*, 1998; Wong *etal.*, 2006). Doksorubisin akan dikenali oleh Pgp dan selanjutnya segera dikeluarkan dari dalam sel sehingga menurunkan konsentrasi efektif doksorubisin dalam sel kanker. Mekanisme pemompaan oleh Pgp sangat bergantung pada aktivasi protein tersebut dan penekanan ekspresi Pgp (Zhou *etal.*, 2006). Oleh karena itu inaktivasi Pgp dan penekanan ekspresinya mampu mengatasi permasalahan resistensi sel kanker terhadap doksorubisin (Mechetner *etal.*, 1998; Zhou *e .al.*, 2006).

3. Tanaman Temu Kunci(*Boesenbergia pandurata*)

Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak ditemukan di negara-negara Asia beriklim tropis. Di Indonesia, temu kunci berasal dari Pulau Jawa atau tepatnya daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur. Tanaman ini tumbuh di daerah yang lembab atau di bawah perlindungan pohon-pohon besar (Kardono *et al.*, 2003). Tanaman temu kunci dapat dilihat pada gambar 3.



A

B

Gambar 3. Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) (A) Tanaman Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) (B) (Plantus, 2008)

a. Klasifikasi

Klasifikasi dari tumbuhan temu kunci adalah:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberacea
Marga	: <i>Boesenbergia</i>
Spesies	: <i>Boesenbergia pandurata</i> (Roxb) Schlechter.

(Plantus, 2008)

b. Morfologi

Tanaman temu kunci termasuk tanaman dengan ketinggian mencapai 13,5 cm. Daun tanaman berwarna hijau, helaian daun tegak, berbentuk lanset dengan ujung daun lancip, dan berukuran panjang 21,4 cm dan lebar 10,1 cm. Jumlah daun sekitar lima helai setiap pohon. Kelopak bunga berwarna ungu dengan ujung bagian atas berwarna merah. Bunga muncul dari ketiak daun, pada bagian atas berwarna ungu,

sedangkan pada bagian bawah berwarna putih. Rimpang berbentuk bulat dikelilingi oleh anak-anak rimpang yang berbentuk agak memanjang dengan ujung agak gemuk. Rimpang berwarna putih kotor, sedangkan daging berwarna kuning muda, berasa enak, dan berbau harum. Kedalaman rimpang mencapai 4,5 cm dan panjang akar 19,8 cm. Ketebalan rimpang muda 0,76 cm dan ketebalan rimpang tua 1,73 cm. Jumlah rimpang muda setiap rumpun sekitar duabelas, sedangkan jumlah rimpang tua sekitar Sembilan (Rukmana, 2008).

c. Kandungan Kimia

Rimpang temu kunci mengandung minyak atsiri berupa 1,8-sineol, kamfer, borneol, pinnen, seskuioterpen, zingiberon, curcumin, dan zeodarin (Rukmana, 2008). Kandungan lainnya berupa kardamonin, pinosembrin (5,7-dihidroksiflavon), pinostrobin (5-hidroksi-7-metoksiflavonon), panduratin A, dan 4-hidroksipanduratin (Trankoontivakorn, *etal.*, 2001; Tuchinda, *etal.*, 2002).

Selain itu rimpang temu kunci juga mengandung pati, damar, saponin, boesenbergin A, boesenbergin B, asam kavinat, senyawa kalkon (2-hidroksi-4,6-dimetoksikalkon; 2,6-hidroksi-4-metoksikalkon; 2-hidroksi-4,4,6-trimetoksikalkon; dan 2,4-dihidroksi-6-metoksikalkon), panduratin BI, serta panduratin B2 (Hargono, 2000).

d. Khasiat

Secara umum, masyarakat Indonesia menggunakan rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) sebagai bumbu masak, sebagai

peluruh dahak, untuk mengatasi flatulensi, penambah nafsu makan, untuk menyembuhkan sariawan, dan pemacu keluarnya air susu ibu (ASI). Dari suatu hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak rimpang yang larut dalam etanol dan aseton memiliki aktivitas antioksidan pada percobaan dengan minyak ikan sehingga mampu menghambat proses ketengikan (Plantus, 2008). Dapat juga dalam mengobati penyakit rematik, radang lambung, peluruh air seni, diare, gangguan pada usus besar, penyakit kulit, dan tonikum (Rukmana, 2008). Selain bersifat analgetik, temu kunci juga berguna untuk mengobati radang indung telur (Muhlisah, 1999). Selain di Indonesia, di negara lain juga banyak yang telah memanfaatkan rimpang temu kunci. Di Thailand, temu kunci biasa digunakan sebagai bumbu masak. Selain itu, juga digunakan sebagai obat antiinflamasi, antibakteri, antitumor, (Tewtrakul, 2009; Tuchinda, *et al.*, 2009). Perasan dan infusa rimpang temu kunci memiliki aktivitas analgetik, abortivum, resorpsi, dan penghambatan perkembangan janin tikus. Trankoontivakorn *et al.*, (2001) menyatakan bahwa ekstrak metanolik dari rimpang temu kunci mempunyai efek antimutagenik pada Trp-P-1 pada uji Ames. Enam kandungan zat aktif yang menunjukkan antimutagenik ini adalah khalkon, cardamonin, pinocembrin, pinostrobin, 4-hidroksipanduratin, dan panduratin A. IC50 masing-masing zat tersebut adalah 5,2 mM, 5,9 mM, 6,9 mM, 5,3 mM, 12,7 mM, dan 12,1 mM.

F. Landasan Teori

Temu kunci adalah tanaman yang dapat bermanfaat sebagai pengobatan antikanker. Beberapa penelitian menyebutkan ekstrak etanolik temu kunci mempunyai komponen sebagai agen kemopreventif sel kanker HeLa dan sel kanker kolon WiDr (Handoko, *etal.*, 2011). Rimpang temu kunci diketahui memiliki kandungan senyawa aktif panduratin A (Sohn *etal.*, 2005). Senyawa panduratin A merupakan derivat dari kalkon yang menunjukkan aktivitas penurunan level protein *Cyclin* D1 dan *Cyclin* E. Penggunaan panduratin A juga menurunkan regulasi CDK2, CDK4, dan CDK6. Penurunan kompleks *Cyclin*-CDK dapat menghambat fosforilasi pRb sehingga E2F tidak aktif sebagai factor transkripsi (Yun, *etal.*, 2006). Berdasarkan penelitian Ujiantari, (2010) terbukti bahwa ekstrak etanolik rimpang temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) dapat meningkatkan aktivitas agen kemoterapi doksorubisin terhadap sel T47D.

Doksorubicin telah digunakan secara luas untuk mengobati berbagai jenis kanker termasuk kanker serviks (Wong *et al.*, 2006). Mekanisme aktivitas antineoplastik doksorubisin menurut (Rock dan DeMichele, 2003) menerangkan bahwa aksi doksorubisin melibatkan ikatan dengan DNA melalui interkalasi diantara pasangan basa serta menghambat sintesis DNA dan RNA melalui pengacauan template dan halangan sterik. Selain itu, mekanisme aksi lainnya adalah melalui ikatan dengan lipid membrane sel, yang dapat mengubah berbagai fungsi selular dan berinteraksi dengan topoisomerase II membentuk kompleks pemotong DNA. Berdasarkan kemampuan senyawa panduratin A yang terdapat

dalam rimpang temu kunci tersebut memungkinkan kombinasinya dengan agen kemoterapi seperti doksorubisin.

G. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas, dapat ditarik hipotesis bahwa ko-kemoterapi EERTK dan doksorubisin mampu menghasilkan efek sitotoksik yang sinergis terhadap sel kanker serviks HeLa.

