

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang ditandai dengan adanya benjolan akibat pertumbuhan sel normal menjadi tidak terkontrol. Sampai saat ini kanker masih menjadi salah satu penyebab kematian terbesar nomor 2 di dunia setelah penyakit kardiovaskuler (WHO, 2010), sedangkan di Indonesia kanker menempati urutan ke 6 penyebab kematian terbesar (Riskesdas, 2007). Klasifikasi kanker didasarkan pada tempat terdapatnya sel abnormal seperti kanker payudara, kanker kolon, kanker paru dan kanker darah. Menurut riset WHO tahun 2012 penderita kanker payudara sebanyak 1,7 juta pada tahun 2012 dan penyebab paling umum kematian pada wanita.

Selama ini penatalaksanaan kanker adalah dengan kemoterapi, terapi radiasi dan pembedahan (Virshup, 2010). Salah satu kemoterapi yang umum digunakan untuk kanker payudara adalah *doxorubicin* (Dox). Penggunaan agen kemoterapi bukan saja tidak begitu efektif namun juga tidak selektif dan sangat toksik bagi jaringan normal (Wattanapitayakul, 2005). Dox dilaporkan dapat menyebabkan terjadinya perubahan kardiovaskuler (Distefano, 2009; Benjamin, *et al.*, 2006) dan resiko resistensi membuatnya menjadi terbatas untuk digunakan (Meiyanto, *et al.*, 2008) dengan dilakukan pengurangan dosis maka akan mengurangi efek samping Dox. Oleh karenanya menjadi suatu tantangan untuk dapat memperbaiki paradigma pengobatan kemoterapi. Salah satu pilihan pengatasan resistensi ialah

menggunakan agen ko-kemoterapi, dimana agen ko-kemoterapi adalah penggunaan kombinasi kemoterapi yakni senyawa kemoprevensi nontoksik dikombinasikan dengan agen kemoterapi untuk meningkatkan efikasi dengan menurunkan toksisitasnya terhadap jaringan normal (Jenie dan Meiyanto, 2009). Sebagaimana hadist riwayat HR. Ahmad 1/377, 413, 453 dan dishahihkan dalam Ash-Shahihah no. 451:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا وَأَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً، جَهْلُهُ مَنْ جَهْلَهُ وَعِلْمُهُ مَنْ عِلْمَهُ

Artinya: Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan penyakit kecuali Dia turunkan pula obat bersamanya. (Hanya saja) tidak mengetahui orang yang tidak mengetahuinya dan mengetahui orang yang mengetahuinya.

Maksud dari ayat diatas bahwa setiap penyakit yang diturunkan Allah untuk ciptaannya pasti ada obatnya jika mau berfikir dan berusaha, sehingga sebagai manusia yang beriman dan berakal sudah sepatutnya melakukan penelusuran ilmu yang bermanfaat untuk kemaslahatan umat. Hadist tersebut mendasari dilakukannya pencarian agen kemoprevensi yang berasal dari bahan alam.

Penggunaan kombinasi kemoterapi dan agen kemoprevensi dapat meningkatkan sensitivitas sel sehingga dapat menurunkan jangka waktu penggunaan kemoterapi. Agen kemoprevensi umumnya memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan kanker melalui mekanisme *cell cycle arrest* (Saphiro dan Harper, 1999), pemacuan apoptosis (Fisher, 1994) ataupun menghambat ekspresi protein yang berperan dalam *Multi Drug Resistance* (Kitagawa, 2006).

Salah satu agen kemoprevensi dari bahan alam yang dapat digunakan adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). Kandungan buah mengkudu salah satunya adalah kumarin yang dilaporkan memiliki aktifitas terapeutik terhadap diabetes melitus, diare dan kanker (Wichi, 1988; Sherwin, 1990). Buah mengkudu diketahui mengandung golongan senyawa kumarin yaitu umbeliferon dan skopoletin (Blanco, 2006). Penelitian sebelumnya pada uji sitotoksik dengan ekstrak etanolik buah mengkudu terhadap sel MCF-7 mendapatkan nilai IC_{50} sebesar 1117 $\mu\text{g/ml}$ (Bintang, *et al.*, 2013) dan fraksi kloroform buah mengkudu terhadap sel MCF-7 dengan IC_{50} sebesar 516 $\mu\text{g/ml}$ (Hapsari, *et al.*, 2014). Uji sitotoksik dilakukan pada senyawa yang dapat bersifat toksik untuk menghambat dan menghentikan pertumbuhan sel kanker tertentu (Zuhud, 2011). Maka dari itu dilakukan inovasi pelarut yang mengacu pada teori *like dissolves like* yang berarti pelarut polar akan melarutkan senyawa yang polar juga. Sifat kepolaran kumarin adalah semi polar dimana senyawa tersebut akan tertarik pada pelarut semi polar juga seperti etil asetat agar dapat lebih toksik terhadap sel kanker payudara MCF-7.

Pada kanker terjadi overekspresi dari beberapa protein sehingga dapat menyebabkan pertumbuhan dari sel kanker dan dapat menghambat terjadinya apoptosis. *Estrogen Receptor-alpha* ($ER\alpha$) merupakan salah satu protein proliferasi sel, sedangkan *B cell lymphoma-x1* (Bcl-x1) adalah homolog dari Bcl-2, dimana keduanya berfungsi sebagai antiapoptosis. Adanya ekspresi berlebihan dari protein $ER\alpha$ dan Bcl-x1 menyebabkan pertumbuhan sel kanker menjadi cepat dan apoptosis menjadi terhambat sehingga dalam pengobatan kanker juga

diperlukan suatu senyawa yang dapat menghambat keduanya. Penghambatan ER α dan Bcl-xl oleh suatu senyawa dapat dilihat menggunakan analisis *molecular docking*.

Pada penelitian ini, Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (EEtM) dilakukan identifikasi kandungan senyawa kumarin menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Selanjutnya uji sitotoksik dan apoptosis terhadap sel kanker payudara MCF-7. Uji sitotoksik dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode 3-(4,5-dimetil thiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT) baik pengujian tunggal ekstrak maupun kombinasi dengan Dox, sedangkan uji apoptosis dilakukan dengan metode *double staining*. Salah satu cara penetapan *in silico* menggunakan metode *molecular docking* untuk mendapatkan skor ikatan senyawa yang menghambat pertumbuhan sel kanker dengan uji molekuler pada protein target.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah golongan senyawa kumarin terkandung dalam EEtM?
2. Apakah EEtM berpotensi sebagai agen sitotoksik pada sel MCF-7?
3. Apakah kombinasi EEtM-Dox berpotensi sebagai agen sitotoksik pada sel MCF-7?
4. Apakah kombinasi EEtM-Dox berpotensi memacu apoptosis pada sel MCF-7?
5. Berdasarkan analisis *molecular docking*, apakah golongan senyawa kumarin pada EEtM seperti skopoletin dan umbeliferon berpotensi sebagai agen ko-kemoterapi pada protein ER α dan Bcl-xl?

C. Keaslian Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas dari ekstrak etil asetat buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap aktivitas sitotoksik dan apoptosis perlakuan tunggal maupun kombinasi dengan Dox. Perbedaan penelitian ini dari penelitian yang pernah dilakukan adalah peneliti sebelumnya meneliti ekstrak etanolik buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dikombinasi Dox menunjukkan efek sinergis pada sel MCF-7 (CI=0,4524), namun bersifat antagonis kuat terhadap sel MDBK (CI=4,7768). Berdasar hasil tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik buah mengkudu cenderung lebih aman untuk sel MDBK dan poten terhadap MCF-7 bila digunakan dalam kombinasi (Andi, *et al.*, 2009). Maka dalam penelitian ini dilakukan percobaan mengenai aktifitas sitotoksik dan apoptosis ekstrak etil asetat buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) tunggal dan kombinasi Dox.

D. Tujuan

1. Tujuan Umum

Mengetahui efek EEtM-Dox sebagai agen ko-kemoterapi kanker payudara

2. Tujuan Khusus

- a. Mengidentifikasi kandungan senyawa kumarin yang terkandung dalam EEtM.
- b. Mengetahui aktifitas EEtM sebagai agen sitotoksik terhadap sel MCF-7.

- c. Mengetahui aktivitas kombinasi EEtM-Dox sebagai agen sitotoksik terhadap sel MCF-7.
- d. Mengetahui efek pemacuan apoptosis pada sel MCF-7 oleh kombinasi EEtM-Dox.
- e. Mengetahui potensi golongan senyawa kumarin pada buah mengkudu seperti skopoletin dan umbeliferon sebagai agen ko-kemoterapi dengan analisis *molecular docking* pada protein ER α dan Bcl-xl.

E. Manfaat

1. Karya tulis ilmiah ini diharapkan dapat memberikan informasi ke masyarakat tentang manfaat buah mengkudu sebagai pendamping terapi Dox pada kanker payudara.
2. Dapat dijadikan dasar pengembangan ekstrak etil asetat buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.).