

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kanker serviks merupakan jenis kanker yang menjadi penyebab kematian tertinggi keempat di dunia. Data Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) 2020, memberikan gambaran total kasus kanker serviks pada wanita di dunia sebanyak 604.000 dengan total kasus kematian sebanyak 342.000 (WHO, 2020). Kanker serviks di Indonesia menjadi kasus kanker dengan insiden dan angka kematian tertinggi ke-2 setelah kanker payudara dengan jumlah 36.633 kasus atau 9,2% dari total kasus kanker. Jumlah kasus kematian akibat kanker serviks pada tahun 2020 mencapai 21.003. Angka ini menunjukkan terdapat 50 kasus terdeteksi setiap harinya dengan lebih dari dua kematian setiap jam (The Global Cancer Observatory, 2020). Infeksi *Human Papilloma Virus* menjadi salah satu penyebab terbanyak kanker serviks dengan 87% kasus kanker serviks invasif berhubungan dengan infeksi HPV 16 atau 18. Infeksi akut dengan HPV tipe 16 dan 18 memberikan risiko 11 kali lipat hingga 16,9 kali lipat untuk berkembang pesat menjadi *Cervical Intraepital Neoplasia* (CIN) tingkat tinggi (ICO/, 2016).

Upaya pencegahan dan pengobatan kanker serviks telah dikeluarkan dan direkomendasikan oleh beberapa pihak termasuk WHO seperti kemoterapi, radioterapi, pembedahan, dan imunoterapi (Setiawan *et al.*, 2020). Penelitian mengenai penanganan kanker serviks terus dilakukan untuk meningkatkan keberlangsungan hidup dan mengurangi toksisitas. Tingkat

kegagalan kemoterapi pada beberapa tumor mencapai 90% selama 6 dekade terakhir menurut instansi pemerintah dan industri (Maeda & Khatami, 2018). Efek samping yang merugikan seperti penurunan kualitas hidup pasien, toksisitas terhadap sel normal di sekitar sel kanker, serta resistensi obat menjadi beberapa hambatan utama dalam pengobatan kanker saat ini (van den Boogaard *et al.*, 2022). Tingginya beban ekonomi dalam biaya pengobatan kanker tersebut, menyebabkan masyarakat menengah ke bawah sulit mendapatkan akses pengobatan yang layak (Setiawan *et al.*, 2020). Berdasarkan hal tersebut pengembangan alternatif pengobatan dengan minim efek samping, memiliki khasiat yang lebih besar dalam pencegahan dan pengobatan kanker, serta biaya yang terjangkau bagi masyarakat masih perlu terus dilakukan. Produk bahan alam telah banyak dimanfaatkan dalam pengembangan obat antikanker terutama kandungan bioaktif yang berasal dari tumbuhan.

Indikator aktivitas antikanker dari senyawa bioaktif tumbuhan dapat dilihat dari kemampuannya dalam menghambat proliferasi sel, menginduksi apoptosis, stabilisasi mikrotubulus, penghentian siklus sel, antiangiogenesis, anti proliferasi, dan anti metastasis (Iqbal *et al.*, 2017). Apoptosis yang merupakan program yang diatur untuk kematian sel terjadi melalui jalur intrinsik dan ekstrinsik. Jalur ekstrinsik apoptosis melibatkan protein yang berperan dalam aktivitas ligan dan sel reseptor kematian diantaranya yaitu FAS, TNF-R, caspases-3, -6, -7, dan -8. Jalur intrinsik yang terjadi dalam mitokondria melibatkan protein seperti Bcl2 dan AKT yang bertindak sebagai anti-

apoptosis, dan protein Bax, Bak dan caspase-9 yang bertindak sebagai protein pro-apoptosis (Mansoori *et al.*, 2017). Mekanisme induksi apoptosis secara molekuler pada penelitian ini akan diteliti dengan analisis ekspresi 3 gen terkait apoptosis seperti *CASP3*, *p53*, dan *Bax*. *p53* yang merupakan *tumor suppressor gene* akan merangsang mitokondria mengeluarkan sitokrom c ke sitosol dan juga mengaktivasi gen proapoptosis *Bax*. Aktivasi *Bax* dengan pelepasan sitokrom akan terbentuk kompleks apoptosome dengan caspase-9 dan Apaf-1 untuk mengaktifkan caspase eksekusioner seperti caspase-3, sehingga aktivasi caspase eksekusioner akan menginisiasi kematian sel secara apoptosis. Caspase menjadi pusat mekanisme apoptosis karena berperan sebagai inisiator dan eksekutor (Martinou & Youle, 2011).

Salah satu tumbuhan yang berpotensi mengandung senyawa bioaktif sebagai antikanker yaitu famili Fagaceae genus *Castanopsis*. *Castanopsis tungurru* (Blume) A.DC. merupakan salah satu spesies dari genus *Castanopsis* yang termasuk dalam tumbuhan terancam punah dengan status genting (EN) dengan persebaran di Indonesia meliputi wilayah Sumatera, Kalimantan Utara, dan Jawa (Jawa Barat). Spesies tersebut menjadi salah satu koleksi *ex situ* yang dapat ditemukan di Kebun Raya Indonesia, sedangkan keberadaan *in situ* dapat ditemukan pada beberapa Taman Nasional dan Hutan Lindung di Jawa (Barstow & Kartawinata, 2018). Tumbuhan *C. tungurru* memiliki potensi cukup tinggi sebagai bahan pangan. Pada umumnya masyarakat lokal memanfaatkan buah *C. tungurru* sebagai sumber pakan ternak maupun konsumsi manusia dan pemanfaatan kayunya

sebagai bahan bangunan, sedangkan untuk pemanfaatan sebagai obat belum banyak dilakukan. Hingga saat ini penelitian mengenai senyawa bioaktif, pemanfaatan tumbuhan dan perbanyak tanaman dari spesies tersebut masih sangat terbatas dan minim dilakukan (Putri & Suhendri, 2020)

Adapun penelitian terkait potensi antikanker dari genus *Castanopsis* sebelumnya pernah dilakukan yaitu pada *Castanopsis indica*. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, organ ranting dari tumbuhan *C. indica* memiliki potensi sebagai antitumor pada sel *Ehrlich ascites carcinoma* (EAC). Senyawa bioaktif  $\beta$ -*Sitosterol glucoside* dalam *C. indica* diketahui mampu menginduksi apoptosis diikuti dengan kerusakan DNA pada hasil uji komet. Apoptosis sel EAC diinduksi oleh aktivasi caspase-3 dan caspase-9 dan meningkatkan pada ekspresi protein p53 dan p21 (Dolai *et al.*, 2016). Ekspresi protein Fas dan aktivitas caspase 8, secara selektif meningkat dengan penambahan  $\beta$ - *Sitosterol* pada sel MCF-7 dan MDA-MB-231 (Grattan, 2013). Berdasarkan hasil penelitian pada *C. indica* sebelumnya memperkuat dugaan bahwa spesies lain dari genus *Castanopsis* seperti *C. tungurru* memiliki potensi antiproliferasi dan induksi apoptosis sebagai indikator aktivitas antikanker. Penelitian untuk mengkaji potensi aktivitas antikanker dari *C. tungurru* perlu dilakukan.

## 1.2 Perumusan Masalah

Meninjau potensi *C. tungurru* sebagai antikanker maka melalui penelitian aktivitas sitotoksik dan induksi apoptosis *C. tungurru* pada sel HeLa terdapat beberapa rumusan masalah yang dapat disimpulkan. Adapun

perumusan masalah dari penelitian ini adalah:

1. Ekstrak dan fraksi apa yang mempunyai aktivitas sitotoksik paling tinggi terhadap sel kanker serviks HeLa?
2. Apakah fraksi potensial *C. tungurru* mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker serviks HeLa?
3. Apakah fraksi potensial *C. tungurru* berpengaruh terhadap ekspresi gen *p53*, *Bax*, dan *CASP3* sel kanker serviks HeLa?
4. Golongan senyawa bioaktif apa yang terkandung dalam fraksi potensial *C. tungurru*?

### 1.3 Keaslian Penelitian

Kandungan senyawa bioaktif dari daun dan ranting *C. tungurru* tidak banyak dikaji secara ilmiah baik kandungan senyawa serta potensi bioaktivitasnya khususnya sebagai agen antikanker. Aktivitas antikanker dari *C. tungurru* dalam penelitian ini dievaluasi melalui uji seluler maupun molekuler berdasarkan aktivitas sitotoksiknya dalam menghambat pertumbuhan sel HeLa in vitro. Penelitian dimulai dari proses ekstraksi dan fraksinasi serta kemungkinan identifikasi kandungan senyawa bioaktif. Hasil dari ekstrak dan fraksi potensial dilihat aktivitasnya dalam menginduksi apoptosis serta pengaruhnya terhadap ekspresi gen terkait apoptosis pada sel HeLa. Hingga saat ini belum banyak kajian mengenai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dari senyawa bioaktif yang terkandung dalam *C. tungurru*. Adapun penelitian yang telah mengkaji aktivitas antikanker dari spesies berbeda dalam genus *Castanopsis* dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kajian potensi *Castanopsis indica* sebagai antikanker

Senyawa	Pelarut	Metode	Aktivitas	Sumber
Ekstrak	Metanol	<i>Comet assay, Flow cytometry</i> dan <i>Western Blot</i>	Induksi apoptosis pada sel EAC dengan peningkatan ekspresi protein apoptosis p53 dan p21 pada sel EAC setelah perlakuan	(Dolai <i>et al.</i> , 2016)

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui ekstrak dan fraksi *C. tungurru* yang memiliki aktivitas sitotoksik paling tinggi terhadap sel kanker serviks HeLa.
2. Mengkaji kemampuan fraksi potensial *C. tungurru* terhadap induksi apoptosis pada sel kanker serviks HeLa
3. Mengetahui pengaruh fraksi potensial *C. tungurru* terhadap ekspresi gen *p53*, *Bax*, dan *CASP3* pada sel kanker serviks HeLa.
4. Menganalisis golongan senyawa bioaktif yang terkandung dalam fraksi potensial *C. tungurru*.

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memiliki manfaat yaitu memberikan data dasar dalam hal potensi aktivitas sitotoksik *C. tungurru* terhadap sel kanker. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan tambahan informasi ilmiah kepada masyarakat mengenai potensi *C. tungurru* sebagai obat antikanker untuk mendukung pemanfaatan bahan pangan fungsional dan meningkatkan nilai ekonomis *C. tungurru*.