

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Kanker payudara adalah abnormalitas pertumbuhan sel menjadi ganas yang menyerang kelenjar payudara, saluran kelenjar air susu dan jaringan penunjang lainnya. Kanker payudara merupakan penyebab kematian akibat kanker terbesar kedua setelah kanker leher rahim dengan angka kejadian 0,5% dan 0,8% tahun 2013 (KeMenKes, 2015). Pada tahun 2012 estimasi timbulnya kasus baru kanker di dunia sebesar 14,1 juta kasus dan angka kematian akibat kanker di dunia sebesar 8,2 juta kasus, dan pada tahun yang sama terjadi kenaikan yang tajam kasus kanker payudara di seluruh dunia 1,7 juta perempuan didiagnosa menderita kanker payudara dan 6,3 juta perempuan yang telah didiagnosa kanker payudara pada 5 tahun sebelumnya, sejak tahun 2008 terjadi peningkatan 20% kasus kanker payudara sedangkan angka kematian kanker payudara telah meningkat sebesar 14 %, dan hal ini juga merupakan penyebab kematian yang paling umum dikalangan wanita (WHO, 2013).

Untuk menguji efek sitotoksik secara *in vitro* banyak digunakan sel kultur, salah satu model sel kultur yang banyak digunakan untuk penelitian kanker payudara yaitu sel MCF-7. MCF-7 banyak digunakan untuk uji secara *in vitro* karena memiliki bentuk terbaik dari sel kanker lainnya, pada proses pertumbuhannya sel MCF pada labu kultur dan media DMEM akan membentuk kultur selapis (Widowati and Mudahar, 2009), karakteristik dari MCF-7 yaitu resisten terhadap agen kemoterapi (Mirmalek *et al.*, 2015). Hal ini disebabkan karena terjadi over ekspresi PgP (P- glikoprotein), MCF-7 membutuhkan ATP untuk mendorong obat keluar sel maka akibatnya konsentrasi obat kemoterapi dalam sel akan turun dan dapat menurunkan efektivitas kemoterapi, faktor resistensi lainnya dikarenakan over ekspresi Bcl-2 dan tidak mengekspresikan caspase-3 sehingga dapat menghindari apoptosis, selain itu apoptosis dapat

dihambat karena degradasi p53 oleh mdm2 yang diaktivasi oleh obat yang resisten (Hermawan *et al.*, 2010).

Beberapa kekurangan agen kemoterapi seperti terjadinya resistensi (Mubarok *et al.*, 2008), indeks terapi yang sempit dan kerja obat antikanker yang tidak selektif (Departemen Farmakologi dan Terapi, 1995) dengan mekanisme kerja obat merusak DNA sel kanker maupun sel normal sehingga memiliki efek samping yang kompleks yang sering dialami oleh penderita, dengan beberapa kekurangan agen kemoterapi maka banyak dilakukan penelitian untuk pengembangan obat baru yang diharapkan memiliki efektivitas yang lebih tinggi dan efek samping yang lebih rendah dibandingkan agen kemoterapi sebelumnya. Maka dari itu perlu dilakukan pengembangan obat antikanker yaitu dengan penemuan senyawa-senyawa baru yang lebih poten terhadap sel kanker, salah satunya yaitu dengan mengeksplorasi senyawa dari bahan alam, dan tertarik bagi peneliti untuk meneliti bahan alam dari tanah karena mengandung banyak mikroorganisme yang dapat dikembangkan sebagai kandidat agen terapi antikanker.

Tanah merupakan salah satu habitat mikroorganisme. Dalam satu gram tanah mengandung jutaan bakteri, fungi, protozoa dan mikroorganisme lain, kandungan banyaknya mikroorganisme dipengaruhi oleh jumlah dan jenis zat hara dalam tanah, kelembaban, tingkat aerasi, suhu, pH dan perlakuan pada tanah (Ambarwati, 2007). Jamur yang dapat diisolasi dari tanah dapat menghasilkan *phytochemical* (alkaloid, steroid, terpenoid, derivat isokumarin, kuinon, flavonoid, fenol dan lain-lain) (Huang *et al.*, 2008), senyawa metabolit yang dihasilkan memiliki aktivitas sebagai anti kanker (Rofida, 2010). Akan tetapi penelitian mengenai biopotensial jamur yang diisolasi dari tanah sebagai penghasil metabolit sebagai antikanker masih sangat terbatas. Menurut penelitian sebelumnya dilakukan evaluasi antioksidatif dan aktivitas sitotoksik dari *Streptomyces pluripotens* MUSC 137 yang diisolasi dari tanah hutan bakau Malaysia. Mikroorganisme yang didapat diisolasi dari tanah hutan bakau, setelah diperiksa aktivitas antioksidan dan efek sitotoksiknya, ekstrak tersebut mempunyai aktivitas antioksidan dan efek sitotoksik terhadap MCF-7 dengan kadar IC<sub>50</sub> sebesar 61,33

$\pm 17,10 \mu\text{g/mL}$  dengan demikian jamur yang diisolasi dari tanah di hutan bakau memiliki aktivitas sebagai antikanker (Ser *et al.*, 2015). Berdasarkan latar belakang tersebut maka akan dilakukan penelitian uji antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah daerah Wonogiri terhadap sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro*.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah jamur yang diisolasi dari tanah daerah sawah, hutan, waduk, tanah kapur, dan tanah di peternakan sapi di Wonogiri dengan ditumbuhkan pada media Czapek dox dan diekstraksi mempunyai efek penghambatan terhadap sel kanker payudara MCF-7 secara *in vitro* dan berapa  $\text{IC}_{50}$  yang didapat?

## **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah di Wonogiri terhadap sel kanker payudara MCF-7 yang dilakukan secara *in vitro* dengan menghitung nilai  $\text{IC}_{50}$  dengan metode MTT assay.

## **D. Tinjauan Pustaka**

### **1. Tanah**

Tanah merupakan suatu sistem kehidupan yang kompleks, di dalam tanah mengandung berbagai mikroorganisme dan sebagian besar mikroba tumbuh dan berkembang di permukaan tanah, bahkan dalam 1 cuplikan tanah terdapat beberapa mikroorganisme yang berbeda. Mikroba bersama-sama dengan fauna melakukan berbagai proses kehidupan dan melaksanakan berbagai metabolisme yang disebut aktivitas biologis tanah, keberadaan mikroba juga dipengaruhi oleh kondisi fisika, kimia dan biologi tanah (Husen, 2007).

Pada umumnya mikroorganisme banyak terdapat di dekat atau di permukaan tanah, semakin kedalam maka mikroorganisme yang hidup semakin

sedikit. Mikroorganisme yang tumbuh di tanah seperti protozoa, bakteri, alga, actinomycetes dan jamur. Pada pengambilan contoh tanah di daerah pertanian diambil pada kedalaman 20 cm, untuk tanah yang terdapat rumput atau semak belukar diambil pada kedalaman 10 cm (Husen, 2007).

## **2. Jamur**

Cendawan atau fungi adalah mikroorganisme eukariotik yang berbentuk filamen, menghasilkan spora, memiliki dinding sel yang mengandung katin dan tidak memiliki klorofil. Fungi banyak terdapat pada tempat-tempat yang banyak mengandung substrat organik (Husen, 2007). Jamur yang terdapat pada tanah biasanya adalah jamur tingkat rendah seperti jamur lendir, berbagai ragi dan ascomycetes. Jamur menghasilkan metabolit seperti mitotoksin, peptida non ribosom, diketopiperazin, alkaloid dan poliketida yang terlibat dalam patogenisitas dan memiliki aktivitas antikanker (Mohamed, 2012).

## **3. Kanker**

### **a. Kanker Payudara**

Kanker payudara adalah tumor ganas yang menyerang jaringan payudara. Jaringan payudara terdiri dari kelenjar air susu, saluran kelenjar dan jaringan penunjang lainnya. Kanker payudara menyebabkan sel dan jaringan tumbuh menjadi tidak terkendali (Merdiana, 2004), kanker payudara memiliki pertumbuhan yang lebih lambat dibandingkan kanker lainnya. Kanker payudara dapat memasuki pembuluh limfe dan tumbuh di kelenjar getah bening, jika sudah mencapai pembuluh getah bening di ketiak maka akan terjadi pembengkakan dan sel kanker akan masuk ke pembuluh darah dan menyebar ke organ lainnya (Soebachman and Agustina, 2011).

### **b. Tahapan Kanker**

Kanker melalui beberapa tingkat yaitu fase inisiasi, fase promosi dan fase progresi.

- 1) Fase inisiasi dipengaruhi karena zat inisiator seperti akibat radiasi dan zat karsinogen, yang mengganggu proses reparasi sehingga terjadi kerusakan DNA dengan kelainan pada kromosomnya.

- 2) Fase promosi yaitu co-carsinogen sebagai pencetus proliferasi sel, dengan demikian sel-sel yang mengalami mutasi tersebut menjadi ganas.
- 3) Fase progresi yaitu kerusakan DNA dapat mengaktifasi pertumbuhan sel, sehingga pertumbuhan sel menjadi cepat dan ganas. Tumor menjadi manifes (Tjay and Rahardja, 2002).

c. Mekanisme Kerja Antikanker Dengan Siklus Sel Kanker

Pembelahan sel terjadi dalam beberapa fase yaitu mitosis (M), pascamitosis ( $G_1$ ), fase sintesis DNA (fase S) dan fase pramitosis ( $G_2$ ). Ditinjau dari siklus sel, obat antikanker digolongkan menjadi 2 golongan. Golongan pertama ialah yang memperlihatkan toksisitas selektif terhadap fase-fase tertentu dalam siklus sel yang disebut *cell cycle – spesific* (CSS) yang efektif terhadap kanker yang berploriferasi tinggi dan golongan kedua yang disebut *cell cycle-nonspesific* (CCNS) yang efektif terhadap sel yang berploriferasi dan sel-sel yang sedang dalam siklus tertentu. Penelitian pengaruh obat terhadap siklus sel diharapkan dapat menemukan pengobatan antikanker yang efektif dan aman (Departemen Farmakologi dan Terapi, 1995).

d. Kerja Antikanker Pada Proses Dalam Sel

Pada umumnya kerja antikanker berdasarkan atas gangguan pada salah satu proses sel yang esensial, tetapi juga dapat mengganggu sel normal dan bersifat kankerosid dan kankerotoksik yang selektif.

- 1) Alkilator yaitu melalui pembentukan ion karbonium atau kompleks lain yang sangat reaktif, alkilasi akan terjadi dengan berbagai nukleofilik penting dalam tubuhnya misalnya fosfat, amino, sulfhidril, hidroksil, karboksil, atau imidazol.
- 2) Antimetabolit yaitu metabolisme purin dan pirimidin lebih tinggi pada sel kanker dibandingkan sel normal, dengan demikian penghambatan sintesis DNA sel kanker lebih dari terhadap sel normal.
- 3) Antagonis pirimidin yaitu menghambat timidilat sintetase dengan akibat hambatan sintesis DNA.

- 4) Antagonis purin yaitu sebagai antagonis kompetitif dari enzim yang menggunakan senyawa purin sebagai substrat, pembentukan MMPR yang menghambat biosintesis purin. Akibatnya sintesis RNA, CoA, ATP dan DNA dihambat.
- 5) Antagonis folat yaitu dengan menghambat dehidrofolat reduktase, antagonis folat membasmi sel dalam fase S, terutama pada fase pertumbuhan yang pesat.
- 6) Alkaloid vinka yaitu berikatan secara spesifik dengan tubulin, protein mikro tubulus, spindle mitotik, dan memblok polimerisasinya.
- 7) Antibiotik yaitu bisa dengan mengganggu fungsi DNA sebagai template dan pertukaran sister chromatid dan pita DNA putus. Memblok polimerase RNA yang dependen terhadap DNA , bersifat sitotoksik, mengurangi asparagin yang mengakibatkan kematian sel (Departemen Farmakologi dan Terapi, 1995).

e. Penanganan Kanker

Ada beberapa cara penanganan kanker, antara lain :

- 1) Pembedahan yaitu dengan mengeluarkan tumor secara radikal, akan tetapi terbatas pada tumor tunggal yang belum menyebar.
- 2) Penyinaran / radiasi yaitu memusnahkan sel-sel tumor dengan sinar radio-aktif.
- 3) Kemoterapi yang biasanya dilakukan dengan radioterapi dan pemberian obat sitostatik.
- 4) Hormon terapi yaitu digunakan pada kanker yang pertumbuhannya tergantung pada hormon.
- 5) Imunoterapi yaitu pengobatan sel kanker dengan cara pemberian zat-zat stimulator dengan mengganggu sel maligna.
- 6) Hipertermi yaitu dengan pemberian kalor untuk memperkuat efek radiasi (Tjay and Rahardja, 2002).

#### **4. Sel Kanker MCF-7**

MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*) adalah sel yang digunakan untuk uji antikanker payudara secara *invitro* karena bentuknya terbaik dari semua jenis sel kanker payudara manusia dan juga karena sel MCF-7 merupakan model sel kanker yang mudah mengalami resistensi (Mubarok *et al.*, 2008). Sel MCF-7 berasal dari jaringan payudara wanita kaukasian berumur 69 tahun, golongan darah O dan RH positif, berupa sel yang melekat (*adherent*). Sel MCF-7 menyerupai sel epitel yang tumbuh secara *monolayer* dan diambil dari tempat efusi pleural metastasis kanker payudara pada penderita kanker payudara. Biakan sel MCF-7 memiliki beberapa karakteristik pada epitel mamari yang berbeda termasuk dalam kemampuannya untuk memproduksi estradiol via reseptor sitoplasma dan kesanggupannya untuk membentuk *dome*. Dalam pertumbuhannya sel ini akan membentuk kultur selapis pada labu kultur dan ditumbuhkan dalam medium DMEM (Widowati and Mudahar, 2009).

#### **5. Uji Sitotoksitas**

Uji sitotoksitas adalah uji toksisitas yang dilakukan secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan dalam evaluasi sediaan kosmetik, zat tambahan makanan, keamanan obat, pestisida, dan untuk mendeteksi adanya aktivitas neoplastik dari suatu senyawa (Freshney, 1992). Keuntungan metode secara *in vitro* yaitu merupakan langkah awal dalam pengembangan obat, dengan menggunakan kultur primer dari berbagai organ target manusia serta memberikan informasi secara langsung efek potensial terhadap sel target.

#### **6. MTT assay**

MTT assay digunakan untuk mengukur proliferasi dan viabilitas atau kelangsungan hidup sel secara *in vitro*. Mekanisme pengukuran dengan MTT assay yaitu senyawa MTT tetrazolium kuning mereduksi metabolit aktif sel sebagai aksi enzim dehidrogenase, sehingga terjadi reduksi ekuivalen seperti NADH dan NADPH, kemudian menghasilkan formazan ungu intraseluler yang dapat dilarutkan dan diukur dengan ELISA *reader* (Lodrecht, 1994).

### **E. Keterangan Empiris**

Penelitian mengenai efek antikanker dari isolat jamur tanah belum banyak dikembangkan di Indonesia, beberapa penelitian di luar negeri yang telah dilakukan seperti: An *et al.* (2016) mengisolasi *penicimenolides A-F, resorcylic acid lactone* dari *penicillium sp*, dari tanah rhizosfer *Panax notoginseng* yang dikumpulkan dari Yunnan China mempunyai nilai  $IC_{50}$  sebesar  $9,89 \pm 0,41 \mu M$  terhadap sel MCF-7. Hani and Eman (2012) mengisolasi dan mempurifikasi dua komponen potensial antikanker dari *Chaetomium globusum* yang diisolasi dari tanah Mesir hasilnya mempunyai  $IC_{50}$   $147,8753 \mu g/mL$ . Thomas *et al.* (2011) meneliti aktivitas antikanker isolat mikroba secara *in vitro* yang dikumpulkan pada habitat yang berbeda hasilnya mempunyai  $IC_{50}$   $44,75 \pm 0,81 \mu g/mL$  terhadap MCF-7.

Berdasarkan keterangan tersebut penelitian ini diharapkan dapat memperoleh data ilmiah efek antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah daerah Wonogiri, dengan pengambilan sampel yang berbeda ekosistem yaitu di sawah, waduk, peternakan, sapi, hutan, dan daerah tanah kapur.