

# **BAB I PENDAHULUAN**

## **A. Latar Belakang Masalah**

Kanker merupakan penyebab kematian paling tinggi di Indonesia maupun di dunia. Menurut WHO (2015), pada tahun 2012 penyakit kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Penyakit kanker ditandai dengan pertumbuhan dan perkembangan sel-sel abnormal yang tidak terkontrol dan dapat mengakibatkan kematian (Garcia *et al.*, 2007). Kanker yang banyak diderita perempuan di Indonesia adalah kanker payudara dan kanker serviks, sementara untuk pria yaitu kanker paru dan kanker kolorektal (Kemenkes RI, 2016). Kanker payudara merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru dan penyebab kematian tertinggi, yaitu 43,3% dan 12,9% (Kemenkes RI, 2015).

Pengobatan utama pada kanker biasanya dengan jalan operasi, kemoterapi, dan radioterapi. Pengobatan kanker selama ini memberikan efek yang tidak diinginkan seperti rasa mual, muntah, sariawan, kerusakan kuku, dan kerontokan rambut (American Cancer Society, 2016). Pengobatan kanker tersebut menimbulkan efek yang merugikan, sehingga memicu berkembangnya alternatif pengobatan yang berasal dari alam atau tumbuhan sebagai terapi antikanker. Masyarakat Indonesia memiliki pengetahuan tradisional yang tinggi dalam memanfaatkan tanaman obat (Hernani, 2011).

Genus *Selaginella* kaya biflavonoid dan beberapa anggota genus *Selaginella* digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional Cina sebagai obat kanker, gastritis, hepatitis, dan penyakit kardiovaskular (Lin *et al.*, 2000). Penelitian yang dilakukan oleh Ngama *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa *Selaginella delicatula* berpotensi sebagai antikanker terhadap sel kanker leukemia P388 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 16,76  $\mu\text{g/mL}$ . Penelitian Li *et al.* (2014) menunjukkan aktivitas sitotoksik ekstrak *S. delicatula* pada sel kanker serviks (HeLa) dengan nilai  $IC_{50}$  92,52  $\mu\text{g/mL}$ , sel karsinoma hati (Bel-7402) nilai  $IC_{50}$  76,29  $\mu\text{g/mL}$ , dan kurang poten terhadap sel kanker kolon (HT-29) dengan nilai  $IC_{50} >100 \mu\text{g/mL}$ .

*Selaginella willdenowii* merupakan salah satu tanaman di Indonesia yang memiliki aktivitas sebagai antikanker terhadap sel kanker kolon (HCT) dengan nilai ED<sub>50</sub> 10,3 µg/mL (Silva *et al.*, 1995). Meskipun demikian, penelitian mengenai aktivitas sitotoksik *S. willdenowii* masih sangat terbatas sehingga dilakukan penelitian mengenai aktivitas sitotoksik pada ekstrak etanol dan fraksi fraksi daun *Selaginella willdenowii* terhadap sel kanker payudara T47D.

### **B. Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah ekstrak etanol, fraksi heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *Selaginella willdenowii* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D?
2. Apakah golongan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak atau fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi?

### **C. Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah tersebut penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *Selaginella willdenowii* terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak atau fraksi yang memiliki aktivitas sitotoksik tertinggi.

### **D. Tinjauan Pustaka**

#### **1. Kanker Payudara**

Kanker payudara merupakan suatu penyakit terjadi karena adanya pertumbuhan tidak terkontrol dari sel-sel (jaringan) payudara. Kanker payudara merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru dan penyebab kematian tertinggi, yaitu 43,3% dan 12,9%. Kanker payudara dapat dicegah melalui tindakan pencegahan primer seperti menghindari faktor resiko dan pencegahan sekunder dengan skrining kanker payudara (Kemenkes RI, 2015). Penelitian

tentang kanker payudara biasanya menggunakan sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. Sel T47D merupakan jenis sel kanker payudara yang diperoleh dari jaringan payudara seorang wanita remaja ataupun wanita dewasa dengan media dasar *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) (ATCC, 2008).

**a. Sel T47D**

Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun yang biasanya dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi. Media sel T47D yaitu RPMI 1640. Sel T47D memiliki morfologi seperti sel epitel yang mengekspresikan protein p53 yang termutasi. Sel T47D merupakan sel kanker payudara ER/PR-positif dan sensitif terhadap doksorubisin. Induksi estrogen eksogen dapat mengakibatkan peningkatan proliferasinya (CCRC, 2013).

Sel T47D dan MCF-7 sama-sama jenis sel kanker payudara akan tetapi memiliki karakteristik yang berbeda. Sel kanker MCF-7 mengekspresikan reseptor estrogen alfa, resisten terhadap doksorubisin dan mengekspresikan kaspase-3. Sedangkan sel kanker T47D memiliki karakteristik mutasi gen p53 yang berfungsi dalam peristiwa apoptosis serta sensitif terhadap doksorubisin. Sensitivitas sel T47D terhadap doksorubisin relatif tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,02  $\mu\text{g/mL}$  dan bersifat *dose-dependent*. Sensitivitas sel T47D terhadap doksorubisin lebih tinggi dibandingkan dengan sel MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,19  $\mu\text{g/mL}$  (Susidarti *et al.*, 2014).

**b. Farmakoterapi kanker**

Terapi kanker payudara dapat dilakukan dengan jalan operasi, kemoterapi, dan radioterapi. Kemoterapi merupakan pilihan terapi yang paling banyak dipilih untuk terapi kanker. Obat sitotoksik yang digunakan sebagai terapi kemoterapi pada kanker payudara meliputi doksorubisin, metotreksat, fluorourasil, epirubisin, siklofosamid, paklitaksel, dosetaksel, melfalan, prednison, vinorelbin, dan

vinkristin. Doksorubisin masuk dalam golongan antrasiklin yang merupakan kelas agen kemoterapi paling aktif dalam pengobatan kanker payudara metastatik (Dipiro *et al.*, 2008).

### c. Tatalaksana terapi

Terapi kanker payudara dilakukan berdasarkan pendekatan humanis serta komprehensif dan sangat ditentukan oleh penyakitnya atau stadium dan ekspresi agen biomolekuler atau biomolekuler-signaling. Pengobatan kanker payudara mempunyai efek terapi yang diharapkan dan tidak terlepas dari efek yang tidak diinginkan, sehingga dalam memberikan terapi harus mempertimbangkan keuntungan dan kerugian yang harus dikomunikasikan pada pasien dan keluarga.

#### 1) Pembedahan

Terapi kanker payudara yang pertama kali dikenal yaitu dengan cara pembedahan. Jenis pembedahan pada kanker payudara antara lain: mastektomi, mastektomi dengan teknik onkoplasti, mastektomi simpel, *Breast Conserving Therapy* (BCT), dan metastasektomi.

#### 2) Terapi Sistemik

Terapi dilakukan dengan kemoterapi yang dapat berupa obat tunggal atau berupa gabungan beberapa kombinasi obat kemoterapi. Kemoterapi diberikan secara bertahap yang biasanya 6-8 siklus agar mendapatkan efek yang diharapkan dan meminimalkan efek samping.

#### 3) Terapi Hormonal

Terapi ini diberikan pada kasus dengan hormonal positif dengan lama pemberiannya selama 5-10 tahun. Lini pertama untuk terapi hormonal dipilih tamoksifen. Dosis untuk tamoksifen adalah 20 mg/hari dan mencapai konsentrasi *steady state* setelah kira-kira 4 bulan terapi. Waktu paruh tamoksifen selama pemberian dosis kronis adalah 7 hari (Dipiro *et al.*, 2008).

#### 4) Radioterapi

Terapi kanker payudara dengan radioterapi dapat diberikan terapi kuratif adjuvan dan terapi pasca BCS (radioterapi seluruh payudara). BCS adalah pembedahan terhadap tumor payudara dengan tetap mempertahankan bentuk

payudara. Tujuan dilakukannya BCS ini untuk mengeradikasi tumor secara onkologis. BCS hanya dapat dilakukan apabila kanker payudara masih berada pada stadium 1 dan 2. Pada kanker payudara stadium 3, BCS dapat dilakukan apabila terdapat respon parsial setelah diberi terapi neoajuvan. Terapi ini menggunakan sinar-X dengan intensitas tinggi untuk membunuh sel kanker yang tidak terangkat saat pembedahan (Kemenkes RI, 2015).

## **2. Doksorubisin**

Doksorubisin merupakan salah satu obat kemoterapi turunan antrasiklin yang paling banyak digunakan. Nama lain doksorubisin yaitu adriamisin atau adris, terdapat gugus hidroksil pada gula dan kadang-kadang disebut sebagai hidroksidaunorubisin. Antrasiklin diklasifikasikan sebagai inhibitor topoisomerase. Antrasiklin terutama inhibitor topoisomerase II memutus DNA untai ganda. Antrasiklin juga mengalami reduksi elektron ke senyawa reaktif yang merusak DNA dan membran sel. Radikal bebas yang terbentuk dari pengurangan antrasiklin pertama menyumbangkan elektron ke oksigen untuk membuat superoksida dan bereaksi dengan sendirinya untuk membuat hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida mengalami pembelahan dan menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan destruktif (Dipiro *et al.*, 2008).

## **3. Metode MTT assay**

Metode MTT *assay* digunakan untuk mengukur proliferasi sel secara kolorimetri. Metode ini relatif cepat, sensitif, akurat, dan dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar dan hasilnya bisa untuk memprediksi sifat sitotoksik suatu bahan (Doyle, 2000). Prinsip metode ini adalah perubahan garam kuning tetrazolium (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) (MTT) menjadi formazan. MTT diabsorpsi ke dalam sel hidup dan terjadi reaksi reduksi oleh enzim reduktase dalam rantai respirasi mitokondria menjadi formazan yang berwarna ungu dan terlarut dalam SDS 10% (Doyle, 2000).

#### **4. Tanaman *Selaginella willdenowii***

##### **a. Sistematika tanaman *S. willdenowii***

Menurut Species 2000 (2017) sistematika tanaman *S. willdenowii* :

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Lycopodiopsida
Ordo	: Selaginellales
Familia	: Selaginellaceae
Genus	: Selaginella
Spesies	: <i>Selaginella willdenowii</i> (Desv.) Backer

##### **b. Kandungan Kimia**

Genus *Selaginella* merupakan tumbuhan yang sangat berpotensi sebagai obat, mengandung berbagai kandungan metabolit sekunder seperti fenolik (flavonoid), terpenoid, dan alkaloid (Setyawan, 2011). Tumbuhan dengan famili yang sama memiliki kandungan metabolit yang hampir sama. Penelitian Djoronga *et al.* (2014) tentang penapisan alkaloid menunjukkan bahwa *S. delicatula* positif mengandung alkaloid. Penelitian Risdian *et al.* (2011) pada sampel kering sebanyak 4,3 kg diperoleh hasil ekstrak etanol 844,4 gram dan menunjukkan total kandungan senyawa flavonoid dalam *Selaginella sp.* sebesar 23%. Lin *et al.* (2000) menemukan empat biflavonoid baru dari *S. delicatula*, yaitu robustaflavon 4-metil eter (1), robustaflavon 7,4-dimetil eter (2), 2,3-dihidrorobustaflavon 7,4-dimetil eter (3), dan 2,3-dihidrorobustaflavon 7,4,7-trimetil eter (4).

Dua biflavonoid yang diketahui yaitu robustaflavon dan amentoflavon, dan tiga asam kafeoilkuinat yaitu asam 3,5-di-O-kafeoilkuinat, asam 3,4-di-O-kafeoilkuinat, dan asam 4,5-di-O-kafeoilkuinat yang diisolasi dari *S. delicatula*. Chen *et al.* (2005) menemukan lima biflavonoid baru yaitu robustaflavon 7,4,4-trimetil eter (1), robustaflavon 4,4-dimetil eter (2), 2,3-dihidroamentoflavon 7,4,7-trimetil eter (3), 2,3-dihidroamentoflavon 7,4-dimetil eter (4), dan 2,3-dihidroisokriptomerin 7-metil eter (5). Ekstrak *S. willdenowii* mengandung flavonoid 4',7''-di-O-metilamentoflavon, isokriptomerin, dan 7''-O-metilrobustaflavon (Silva *et al.*, 1995).

### c. Aktivitas Farmakologi

Beberapa anggota genus *Selaginella* digunakan secara luas dalam pengobatan tradisional Cina sebagai obat kanker, gastritis, hepatitis, dan penyakit kardiovaskular. Aktivitas sitotoksik *S. delicatula* dievaluasi pada berbagai sel tumor. Senyawa robustaflavon 4-metil eter dan 2,3-dihidrorobustaflavon 7,4-dimetil eter secara signifikan menekan pertumbuhan sel tumor Raji dan Calu-1 (Lin *et al.*, 2000). Penelitian Chen *et al.*, 2005 menunjukkan isolasi robustaflavon 4,4-dimetil eter, 2,3-dihidroamentoflavon 7,4-dimetil eter, dan alfa-tokoferil kuinon menunjukkan aktivitas sitotoksik. Kandungan flavonoid pada *Selaginella* ini juga berpotensi menjadi senyawa penghambat pertumbuhan sel kanker. Ekstrak *S. willdenowii* mengandung flavonoid 4',7''-di-O-metilamentoflavon, isokriptomerin, dan 7''-O-metilrobusta-flavon yang secara signifikan sitotoksik terhadap berbagai sel kanker (Silva *et al.*, 1995).

## E. LANDASAN TEORI

Ekstrak etanol *Selaginella sp.* menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dan MCF-7. Ekstrak butanol *Selaginella plana* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara MCF-7 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 2  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak etanol *S. plana* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 7  $\mu\text{g/mL}$  (Handayani *et al.* 2013). Aktivitas sitotoksik tersebut diduga karena kandungan total flavonoid yang tinggi yaitu 23,04%. Kandungan flavonoid di *Selaginella sp* diketahui dapat menghambat proliferasi sel kanker. Silva *et al.*, (1995) dan Lee *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa *Selaginella doederleinii* dan *Selaginella willdenowii* juga dapat menghambat sel kanker manusia seperti sel kanker kolon (HCT) dan sel kanker paru-paru (NCI-H358).

Penelitian Ngama *et al.* (2015) menunjukkan bahwa *S. delicatula* berpotensi sebagai antikanker terhadap sel kanker leukemia P388 dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 16,76  $\mu\text{g/mL}$ . *S. tamariscina*, *S. delicatula*, dan *S. moellendorfii* telah dilaporkan menunjukkan khasiat sebagai antitumor dan sifat antioksidan. Penelitian Li *et al.* (2014) menunjukkan aktivitas sitotoksik ekstrak *S. delicatula* lebih poten pada sel

kanker serviks (HeLa), sel karsinoma hati (Bel-7402) dan kurang poten terhadap sel kanker kolon (HT-29). Ekstrak *S. delicatula* mengandung robustaflavon dan amentoflavon atau turunannya yang bersifat sitotoksik terhadap sel kanker P-388, HT-29 (Chen *et al.*, 2005), Raji, Calu-1, limfoma dan leukemia (Lin *et al.*, 2000).

Ekstraksi dapat terjadi secara selektif atau total, pemilihan pelarut diprioritaskan berdasarkan selektivitas bahan yang akan diekstraksi. Tanaman diekstraksi menggunakan pelarut berdasarkan kepolaran dengan prinsip “*like dissolves like*” untuk memperoleh ekstrak yang selektif. Pelarut non-polar digunakan untuk melarutkan sebagian besar senyawa lipofilik (alkana, asam lemak, pigmen, lilin, beberapa terpenoid, alkaloid, dan kumarin). Pelarut semi polar biasanya digunakan untuk mengekstraksi komponen senyawa yang polaritasnya sedang (beberapa alkaloid dan flavonoid), sedangkan pelarut yang lebih polar digunakan untuk senyawa yang polaritasnya tinggi (glikosida flavonoid, tanin, dan beberapa alkaloid) (Sarker, 2012).

Senyawa metabolit utama yang terdapat pada *Selaginella* adalah biflavonoid (Setyawan, 2011). Biflavonoid merupakan dimer flavonoid yang terbentuk dari dua unit flavon atau campuran dimer antara flavon dengan flavonon (Smith *et al.*, 2000). Fraksinasi daun *Selaginella willdenowii* menghasilkan tiga biflavon yaitu 4',7"-di-O-metilamentoflavon, isokriptomerin dan 7"-O-metilrobustaflavon yang secara signifikan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker manusia. Fraksi etil asetat (semi polar) *S. willdenowii* menunjukkan aktivitas sitotoksik yang signifikan pada sel kanker kolon (Silva *et al.*, 1995).

## F. HIPOTESIS

1. Ekstrak etanol, fraksi heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun *Selaginella willdenowii* memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Fraksi etil asetat *Selaginella willdenowii* mengandung golongan senyawa metabolit sekunder flavonoid yang memiliki aktivitas sitotoksik.