

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal dan tak terkontrol. Sel-sel tersebut terbentuk karena terjadinya mutasi gen sehingga mengalami perubahan baik bentuk, ukuran, maupun fungsi dari sel tubuh yang asli. Mutasi gen ini dipicu oleh keberadaan suatu bahan asing yang masuk ke dalam tubuh diantaranya zat bahan tambahan makanan, radioaktif, oksidan, atau karsinogen yang dihasilkan oleh tubuh sendiri secara alamiah. Sel kanker akan tumbuh menyusup ke jaringan sekitarnya, dan tersebar ke tempat yang lebih jauh melalui pembuluh darah dan pembuluh getah bening (Sumarno, 2008). Sel-sel yang mengalami transformasi terus-menerus berproliferasi dan menekan pertumbuhan sel normal (Diananda, 2009). Pada akhirnya menyebabkan kematian penderitanya.

Kanker disebut sebagai penyebab kedua kematian karena lebih dari 500.000 kematian di Amerika Serikat per tahun disebabkan oleh penyakit kanker setelah penyakit kardiovaskular (Diananda, 2009). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) tahun 2010, setiap tahun penderita kanker di dunia bertambah 6,25 juta orang dan 10 tahun mendatang diperkirakan 9 juta meninggal akibat kanker. Jumlah penderita kanker di dunia setiap tahun bertambah sekitar 7 juta orang, dan dua per tiga diantaranya berada di negara-negara yang sedang berkembang. Jika tidak dikendalikan, diperkirakan 26 juta orang akan menderita kanker dan 17 juta

meninggal karena kanker pada tahun 2030. Kejadian ini akan terjadi lebih cepat di negara miskin dan berkembang (*International Agency Research of Cancer, 2009*).

Indonesia setiap tahun diperkirakan terdapat 100 penderita baru per 100.000 penduduk. Hal ini dapat diartikan bahwa jumlah 237 juta penduduk, ada sekitar 237.000 penderita kanker baru setiap tahunnya (Yayasan Kanker Indonesia, 2013). Sejalan dengan itu, data empiris juga menunjukkan bahwa kematian akibat kanker dari tahun ke tahun terus meningkat. Berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2007, sekitar 5,7 % kematian semua umur disebabkan oleh kanker ganas.

Salah satu jenis kanker ganas yang cukup mematikan adalah fibrosarcoma. Fibrosarcoma merupakan jenis kanker yang sel-selnya berasal dari mesoderm atau mesenkim dan termasuk tumor yang bersifat ganas, yaitu tumor yang sel-selnya tumbuh tidak terbatas, dapat mengadakan infiltrasi atau metastase, dan fibrosarcoma ini merupakan jenis sarcoma pada jaringan lunak yang paling banyak ditemui pada tahun 2008 (*Surveillance Epidemiology and End Result, 2014*). Terhitung ada sekitar 7,1% kasus fibrosarcoma dari seluruh diagnosa sarcoma. *National Center for Health Statistics (NCHS)* memperkirakan bahwa pada tahun 2010 ada 10.520 kasus dari semua usia terdiagnosa sarcoma dan 3.920 diantaranya mengalami kematian. Meskipun sarcoma relatif jarang ditemui namun sarcoma cukup mematikan terutama sarcoma jaringan lunak (*Surveillance Epidemiology and End Result, 2014*).

Penyebab terjadinya kanker terdiri atas faktor endogen dan faktor eksogen. Faktor endogen antara lain gen dan produk-produk gen, hormon dan enzim

tertentu. Sedangkan faktor eksogen bisa berupa radiasi, virus, dan senyawa kimia karsinogen (pemicu kanker) (Hahn & Payne, 2003). Karsinogen adalah bahan yang dapat memicu terjadinya kanker atau keganasan. Karsinogen dapat mempengaruhi DNA atau suatu protein yang berperan pada pengaturan siklus pembelahan sel, seperti *protooncogene* atau *tumor suppressor gene* (Sudiana, 2008)

Proses terjadinya kanker yang diawali dengan adanya kerusakan DNA atau mutasi pada gen-gen pengatur pertumbuhan, seperti gen p53 dan ras (Hanahan and Weinberg, 2000). Gen p53 ini berfungsi mencegah propagasi sel yang secara genetik mengalami kerusakan dengan jalan menghentikan tahap G1 dan menginduksi gen DNA repair untuk melakukan mekanisme apoptosis. Apoptosis atau program kematian sel dalam keadaan normal dikendalikan secara genetik, dipengaruhi organogenesis jaringan homeostasis dan diperbaiki sistem imun untuk menyingkirkan zat reaktif.

Kegagalan proses apoptosis atau kematian sel yang secara integral juga menyebabkan sel kanker hidup lebih lama dibanding sel normal. Kegagalan ini akibat sel tidak melakukan mekanisme apoptosis terhadap sel yang mengalami kerusakan DNA, dimana jalur pembentukan enzim Caspase 3 yang merupakan stimulan mekanisme apoptosis mengalami gangguan. Kegagalan mekanisme ini juga menyebabkan sel kanker resisten terhadap pengobatan secara iradiasi dan penggunaan obat secara kemoterapi yang bekerja dengan cara merusak DNA. Pada kegagalan apoptosis, sel memperpanjang tahap G1 dan menghilangkan tahap G0 (fase istirahat) pada siklus hidup sel sehingga sel terus melakukan replikasi dan diferensiasi. Kegagalan mekanisme apoptosis sangat berperan pada

perkembangan sel tumor (jinak) menuju sel kanker (ganas), karena DNA yang rusak akan menurunkan kerusakannya secara replikasi.

Selain akibat kegagalan sistem regulasi pada gen, kanker juga dipicu oleh adanya gen spesifik (onkogen) yang memiliki kemampuan memicu transformasi pada sel yang mengalami mutasi. Onkogen umumnya diturunkan dari gen yang mengkode protein yang memacu mekanisme proliferasi pada sel normal. Selain itu peran imunitas juga mempengaruhi terjadinya pertumbuhan kanker.

Setelah diketahui berbagai faktor penyebab terjadinya kanker, kini para ahli di dunia mencari metode yang tepat untuk mencegah terjadinya kanker. Tetapi, penyakit kanker umumnya baru diketahui setelah sampai pada tahap progresi hingga sulit dilakukan terapi, karena sudah mengalami kelainan seluler yang majemuk. Dalam perihal berobat sebuah hadist riwayat Ibnu Mas'ud radhiallahu'anh, bahwa Rasulullah Saw pernah bersabda:

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً ، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَ جَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ

Artinya: “Sesungguhnya Allah Subhanahu wa Ta’ala tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.” (HR. Ahmad, Ibnu Majah, dan Al-Hakim, beliau menshahihkannya dan disepakati oleh Adz-Dzahabi. Al-Bushiri menshahihkan hadits ini dalam Zawa'id-nya. Lihat takhrij Al-Arnauth atas Zadul Ma'ad, 4.12-13)

Berdasarkan penjelasan Rasulullah Saw dalam hadits di atas, maka apabila saat ini tidak ada obat yang mampu menyembuhkan suatu penyakit, bukan berarti bahwa penyakit tersebut tidak ada obatnya. Akan tetapi, hal itu terjadi karena ilmu pengetahuan manusia yang belum mampu menemukan dan mengungkap obat dari

penyakit tersebut. Seperti halnya penyakit kanker, telah banyak terapi yang dikembangkan untuk mengatasi kanker, antara lain dengan operasi pembedahan, kemoterapi, terapi radiasi, terapi hormonal dan terapi biologis (Sindutrisno, 1984). Dari beberapa jenis terapi yang telah disebutkan di atas belum didapat hasil yang memuaskan dan memiliki efek samping yang merugikan, sehingga perlu dicari alternatif lain dalam usaha pengobatan penyakit. Obat yang diharapkan dapat mengembalikan dan memperbaiki sistem imun yang fungsinya terganggu atau untuk menekan fungsinya yang berlebihan merupakan obat ideal.

Sistem imun sangat diperlukan untuk membunuh sel-sel kanker dan pertahanan tubuh terhadap antigen. Sel kanker dikenal tubuh sebagai benda asing, tubuh merespon dengan sel imun secara humoral maupun seluler (Selgrade, 2000). Senyawa-senyawa yang mempunyai prospek cukup baik yang dapat meningkatkan aktivitas sistem imun biasanya dari golongan flavonoid, kurkumin, limonoid, vitamin C, vitamin E (tokoferol) dan katekin. Hasil test secara *in vitro* dari flavonoid golongan flavones dan flavonols telah menunjukkan adanya respon imun (Hollman *et al.*, 1996). Sedangkan katekin merupakan senyawa fenol, aktivitasnya sebagai antioksidan yang lebih tinggi daripada antioksidan sintetik seperti BHA (*Butil Hidroksi Anisol*) (Das, 2005). Katekin mempunyai efek antiproliferatif dan bersifat toksik terhadap sel kanker. Kebanyakan senyawa fenol telah diuji secara *in vitro* dan *in vivo* memperlihatkan kemampuan antioksidan, antiinflamasi dan antialergi. Sedangkan senyawa yang mempunyai bioaktivitas sebagai imunostimulan agent adalah golongan senyawa polisakarida, terpenoids, alkaloid dan polifenol (Wagner, 1985)

Golongan senyawa kimia dalam herbal medicine yang berkaitan dengan aktifitas anti kanker salah satunya adalah flavonoid, di mana senyawa ini akan menghambat pertumbuhan dan menginduksi proses apoptosis pada target sel-sel kanker (Lisdawati, 2009). Flavonoid menghambat proliferasi sel kanker dengan jalan menghambat enzim *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK). Disamping itu menurut beberapa peneliti yang meneliti efek kandungan flavonoid pada salah satu herbal medicine Di Gamaleya Institute of Microbiology and Epidemiology, Moscow, Russia dan Chittaranjan National Cancer Institute, Kolkata, India mengemukakan bahwa flavonoid dapat memproduksi IFN- γ dalam suatu populasi immunosit, yang sangat penting dalam memacu aktivasi *Citotoxic T Lymphocyte* (CTL) dan sel *Natural Killer* (NK) pada sistem imun terhadap sel-sel kanker yang berperan dalam terjadinya apoptosis dalam sel kanker tersebut (Abbas *et al.*, 2005).

Tumbuhan obat yang bekerja pada sistem imunitas bukan hanya bekerja sebagai efektor yang langsung menghadapi penyebab penyakitnya, melainkan bekerja melalui pengaturan imunitas. Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan di muka bumi untuk memenuhi kebutuhan manusia baik digunakan sebagai bahan makanan, minuman, maupun obat. Terdapat banyak manfaat pada tumbuhan merupakan salah satu keagungan Allah SWT dalam penciptaan-Nya bagi orang-orang yang selalu berfikir, sebagaimana dijelaskan dalam Qs. as Syu'ara (26): 7-8:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

Artinya: “Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai **macam tumbuh-tumbuhan yang baik**.? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman” (Q.S. as Syu’ara 7-8).

Kata (زوج كرم) bermakna “tumbuh-tumbuhan yang baik”. Menurut tafsir Jajalain kata tumbuhan-tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan dan hewan. Tanaman yang dimaksud dalam tafsir tersebut berupa tanaman yang bermanfaat bagi mahluk hidup dan tidak bersifat merugikan, termasuk di dalamnya adalah tanaman yang dimanfaatkan sebagai pengobatan. Sebagian besar tanaman mengandung ratusan jenis senyawa kimia, baik yang telah diketahui jenis dan khasiatnya ataupun yang belum diketahui jenis dan khasiatnya. Senyawa kimia merupakan salah satu bahan dasar dalam pembuatan obat dari berbagai hasil pengkajian menunjukkan bahwa tanaman daerah tropis mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan sebagai obat (Sukara, 2000).

Indonesia dikenal sebagai negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua setelah Brazil, fakta ini tentu memiliki potensi dalam pengembangan obat herbal yang berbasis pada tumbuhan obat dalam usaha kemandirian di bidang kesehatan. Tumbuhan tersebut menghasilkan senyawa metabolit sekunder dengan struktur molekul dan aktivitas biologi yang beraneka ragam. Beberapa senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antikanker, antara lain golongan alkaloid, terpenoid, flavonoid, santon dan kumarin (Lisdawati, 2007).

Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.) merupakan salah satu tanaman yang kaya akan kandungan senyawa kimia dan sering digunakan sebagai obat, tanaman ini merupakan tanaman yang mudah didapatkan karena tanaman ini tumbuh liar di daerah dataran rendah dan merupakan tanaman semak yang banyak tumbuh di daerah beriklim tropis dan secara empiris banyak dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional untuk obat sakit gigi, penawar racun, obat masuk angin dan batuk asma (Kartasaputra, 1988).

Tanaman Widuri telah ditemukan lebih dari 23 jenis senyawa bioaktif dari berbagai bagian tanaman, salah satu senyawa bioaktif tersebut adalah cardenolide. Cardenolide banyak ditemukan pada bagian daun Widuri (*Calotropis gigantea* L.) (Kumar, 2011). Cardenolide merupakan kumpulan senyawa aktif yang berpotensi sebagai senyawa sitotoksik yaitu beracun terhadap sel. Sifatnya yang sitotoksik ini bermanfaat bagi kesehatan dan sangat berguna dalam menyerang sel kanker.

Daunnya mengandung saponin, flavonoida, polifenol, tanin dan kalsium oksalat. Batangnya mengandung tanin, saponin dan kalsium oksalat. Hasil KLT ekstrak metanol kulit akar dari *Calotropis gigantea* L. menunjukkan bahwa di dalamnya terkandung flavonoid, glikosida, saponin, steroid dan terpenoid (Habib dan Karim, 2011). Ekstrak kulit akar dari *Calotropis gigantea* L. juga mengandung tanin, flavonoid, triterpen dan alkaloid (Kumar, 2011).

Ekstrak kasar bunga Widuri (*Calotropis gigantea* L.) mempunyai aktivitas antitumor dalam melawan *Ehrlich's ascites carcinoma* (EAC) pada mencit Swiss yang diberikan secara intraperitoneal pada dosis 50, 100 dan 200 mg/Kg BB. Dosis tertinggi ekstrak etanol 70 % akar Widuri adalah yang paling berpotensi

sebagai antitumor dibandingkan dengan obat kanker bleomycin (0,3 mg/Kg) (Habib dan Karim, 2011).

Ekstrak alkohol 95% akar dari *Calotropis gigantea* L. yang diujikan pada tikus albino menunjukkan adanya aktivitas analgesik (Pathak, 2012). Ekstrak etanol 95% akar dari *Calotropis gigantea* L. juga dapat digunakan sebagai obat kontrasepsi (Srivastava, S.R, *et al.*, 2007). Ekstrak etanol 95% kulit akar dari *Calotropis gigantea* yang diberikan pada tikus secara *in vivo* menunjukkan adanya aktivitas penyembuh luka (Deshmukh P.T *et al.*, 2009). Ekstrak metanol kulit akar *Calotropis gigantea* L. yang diberikan pada mencit albino menunjukkan adanya aktivitas antitumor (Habib dan Karim, 2011). Ekstrak metanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) dengan dosis 10 dan 20 mg/Kg dan ekstrak kloroform akar Widuri dosis 20 dan 40 mg/Kg menunjukkan aktivitas antitumor secara signifikan pada *Ehrlich's ascites carcinoma* (EAC) (Habib dan Karim, 2011).

Berdasarkan laporan komponen bioaktif yang dikandung dan sifat antioksidan serta aktivitas biologis dari ekstrak Widuri (*Calotropis gigantea* L.) tersebut, tumbuhan Widuri (*Calotropis gigantea* L.) diharapkan berpotensi sebagai imunomodulator atau dapat meningkatkan sistem imun tubuh. Dalam hubungannya dengan sistem imun, lebih lanjut Vinardell dan Mitjaans (2008), menyatakan bahwa senyawa polifenol bersifat sebagai imunomodulator yaitu secara efektif dapat menstimulasi IFN- γ . IFN- γ adalah sitokin utama yang mengaktivasi CD8⁺ pada tumor (Dewanti, 2012). IFN- γ juga sangat penting untuk menstimulasi komponen *immunosurveillance* yaitu sel NK, sel T sitotoksik (CD8⁺) dan makrofag yang berperan di dalam proses *killing* dan apoptosis pada

sel-sel kanker (Abbas *et al.*, 2005). Selain itu juga dapat meningkatkan aktivasi Caspase, yang merupakan kelompok protease sitokin intraseluler yang menjadi komponen utama pada respon terhadap apoptosis. Dalam hal ini, caspase 3 adalah salah satu jenis caspase efektor yang berperan dalam aktivasi proteolitik selama apoptosis.

Dalam proses apoptosis baik di tingkat embryogenik atau bersifat patologik berperan suatu peptida dari kelompok protein sistein protease yang disebut dengan caspase. Caspase pada apoptosis masuk ke dalam kelompok caspase yang berperan dalam proses inflamasi. Caspase 3 merupakan kelompok caspase yang paling penting dalam proses apoptosis, dan dengan teknik immunohistokimia apoptosis ini akan terlihat sebagai gumpalan coklat dalam sitoplasma.

Penelitian ini dilakukan secara *in vivo* untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap kadar IFN- γ , ekspresi caspase 3 dan rata-rata berat badan pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.) akibat induksi 7,12-Dimetilbenz(α) Antrasena (DMBA). Hal ini juga menjadi dasar ilmiah untuk pengembangan ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) sebagai tumbuhan obat fungsional untuk meningkatkan sistem imun tubuh dalam terapi adjuvan pada kanker, terutama fibrosarcoma.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah;

1. Apakah ada pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap kadar IFN- γ pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.)?
2. Apakah ada pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap ekspresi caspase 3 pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.)?
3. Apakah ada pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap rata-rata berat badan pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk;

1. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap kadar IFN- γ pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.).
2. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap ekspresi Caspase 3 pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.).
3. Mengetahui pengaruh ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) terhadap rata-rata berat badan pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.).

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) berpengaruh terhadap kadar IFN- γ dan ekspresi Caspase

3 serta rata-rata berat badan pada fibrosarcoma mencit (*Mus musculus* L.) akibat induksi 7,12-dimethylbenz(α) Antrasena (DMBA).

1.5 Manfaat penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat dan menjadi dasar untuk mengembangkan ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) sebagai tumbuhan obat fungsional untuk meningkatkan sistem imun dalam terapi adjuvan pada kanker, terutama fibrosarcoma.

1.6 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus* L.) jantan galur Balb/C umur 50-60 hari dengan berat badan antara 20-30 gram sebanyak 30 ekor.
2. Akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) diperoleh dari kota Pasuruhan Jawa Timur.
3. Bahan pelarut ekstrak etanol 70% akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) CMC Na 0,5%.
4. Bahan pemicu kanker yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7,12-dimetilbenz(α)Antrasena (DMBA) yang dilarutkan dalam aseton dengan dosis 0,025 mg/ gram BB, diinduksikan secara subkutan di tengkuk mencit sebanyak dua kali seminggu selama 6 minggu.
5. Dosis ekstrak etanol akar Widuri (*Calotropis gigantea* L.) yang dipakai dalam penelitian ini adalah 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 150 mg/kg BB.

6. Parameter yang diamati adalah rata-rata kadar IFN- γ dan ekspresi Capase 3 serta berat mencit (*Mus musculus* L.).
7. Preparat jaringan diwarnai dengan pewarna IHK (Imunohistokimia) dan diamati di bawah mikroskop komputer dengan perbesaran 400x.

