

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Kanker payudara adalah salah satu masalah utama kesehatan wanita di dunia. Tahun 2009 di Amerika Serikat terdapat sekitar 192.370 kasus baru kanker payudara infasif yang didiagnosis pada wanita, dan 62.280 kasus kanker payudara in situ. Kanker payudara menjadi tumor ganas tertinggi diikuti tumor ganas leher Rahim di Indonesia. Insiden kanker payudara sebesar 100 per 100.000 perempuan.¹Diperkirakan angka kejadian di Indonesia adalah 12/100.000 wanita dengan mortalitas yang cukup tinggi yaitu 27/100.000 atau 18 % dari kematian yang dijumpai pada wanita. Penyakit ini juga dapat diderita pada laki – laki dengan frekuensi sekitar 1%. Lebih dari 80% kasus di Indonesia ditemukan berada pada stadium lanjut, dimana upaya pengobatan sulit dilakukan.²

Perlindungan utama dalam perkembangan kanker pada manusia, diperantarai oleh dua jalur utama yang melibatkan *protein retinoblastoma* (RB) dan protein *P53*. Kedua jalur tersebut lebih sering berada dalam kondisi terinaktivasi pada sel kanker. *P53* merupakan protein yang dikode oleh gen *TP53 / P53* memiliki berat molekuler sekitar 53 kilodalton.⁸ Gen ini memiliki 11 ekson dan memiliki total sekuens sepanjang 20 kb. *P53* mengatur baik represi maupun aktivasi transkripsi sejumlah gen-gen *downstresm* yang berperan vital dalam respon sel terhadap stress lingkungan, efek genotoksik (seperti alterasi DNA yang disebabkan oleh UV, radiasi, karsinogen, obat kemoterapi sitotoksik), maupun efek non

genotoksik (seperti hipoksia, aktivasi onkogen, represi nukleotida, kerusakan mikrotubula, dan kehilangan kontak antar sel).⁸ Sebagian fungsinya adalah induksi apoptosis, mengontrol dan menghentikan siklus sel (*cycle cell arrest*), berperan dalam perbaikan DNA, dan menghambat angiogenesis.⁸ Aktivitas spesifik kualitatif dan kuantitatif *P53* tergantung pada integritasnya (status mutasi), jumlah, modifikasi spesifik post translasi sebagai respon terhadap stres lingkungan dan interaksi dengan sejumlah kofaktornya.⁹

Fungsi *P53* dalam mengatur respon sel terhadap stres lingkungan berperan besar dalam mencegah timbulnya tumor, sehing *P53* dikenal sebagai salah satu contoh dari gen penekan tumor (*Tumor Suppressor Gene*). Pembuktian fungsi gen *P53* sebagai penekan tumor terlihat dari fenotipe mencit yang direkayasa untuk termutasi atau kehilangan satu atau dua alelgen *P53* cenderung untuk mati lebih awal karena mendapatkan tumor, dibandingkan mencit lain yang masih memiliki dua alele normal dari gen *P53*.^{8,10} Studi pada manusia juga menunjukkan bahwa hampir separuh lebih jenis tumor ditemukan mutasi pada gen *P53* ini.¹¹

Mutasi pada gen *P53* bisa menyebabkan hilangnya fungsi penekan tumor dengan mekanisme alterasi fungsi protein *P53* sebagai faktor induksi apoptosis, dan sebagai faktor transkripsi. Mutasi *germline* pada gen *P53* dijumpai pada kasus kanker herediter seperti *Li-Fraumeni Syndrome*, dimana penderitanya mendapatkan berbagai macam kanker secara dini. Namun persentase mutasi somatik gen *P53* juga dijumpai pada sekitar 25-30% kasus kanker payudara sporadis. Sebagian besar mutasi gen *P53* terlokalisasi pada daerah pengikatan DNA dan \pm 90% mutasi yang terjadi berupa *missense point mutation*. Dari sejumlah

penelitian menunjukkan bahwa poin mutasi lebih banyak terjadi pada ekson 5 hingga 8.¹⁰

Penelitian ini ingin membuktikan efektifitas ekstrak *Artemisia vulgaris* sebagai adjuvan pemberian kemoterapi adenokarsinoma mamma untuk peningkatan ekspresi *P53* dan penurunan *protein retinoblastoma* pada mencit C3H yang diberi *Adriamycin-Cyclophosphamide*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat mendukung penggunaan *Artemisia vulgaris* sebagai salah satu adjuvan kemoterapi terhadap kanker payudara.

Terapi kanker payudara digolongkan menjadi pembedahan, radioterapi, kemoterapi dan terapi hormonal.⁵⁸ Kemoterapi adalah proses pengobatan dengan menggunakan obat-obatan yang bertujuan untuk menghancurkan atau memperlambat pertumbuhan sel-sel kanker. Efek samping kemoterapi timbul karena obat-obat kemoterapi tidak hanya menghancurkan sel-sel kanker tetapi juga menyerang sel-sel sehat, terutama sel-sel yang membelah dengan cepat. Kemoterapi pada kanker payudara dilakukan dalam bentuk regimen. Kombinasi kemoterapi paling sering digunakan adalah *Fluorouracil*, *Doxorubicin* dan *Cyclophosphamide* (*FAC*); *Fluorouracil*, *Epirubicin* dan *Cyclophosphamide* (*FEC*); *Doxorubicin* dan *Cyclophosphamide* (*AC*) dan *Cyclophosphamide*, *Methotrexate* dan *Fluorouracil* (*CMF*). Kemoterapi ini diberikan secara intermiten dalam interval tiga hingga empat minggu. *FAC*, *FEC* dan *CMF* diberikan dalam 6 siklus (dalam jangka waktu 18 sampai 24 minggu) sedangkan *AC* diberikan dalam 4 siklus (dalam jangka waktu 12 sampai 16 minggu).³

Angka keberhasilan kemoterapi didasarkan pada evaluasi *objective response rate* pasca kemoterapi (*Partial Response* dan *Complete Response – CR/PR*). Kemoterapi untuk kanker payudara memiliki CR/PR hanya berkisar antara 20% - 40%, tetapi obat ini punya efek toksis terhadap hepar, ginjal, jantung, dan organ-organ lain tubuh, serta immunosupresi.⁴

Penelitian telah difokuskan pada pengembangan kemoterapi lebih aman dengan mengeksplorasi sifat anti kanker senyawa baru, salah satunya yang berasal dari tanaman obat. Banyak turunan tanaman obat yang dikenal efektif melawan berbagai penyakit dengan aktivitas antibiotik dan anti malignant luas.⁵

Sudah banyak penelitian yang dilakukan mengenai tanaman obat yang digunakan sebagai adjuvan kemoterapi, antara lain : Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*), Jinten Hitam (*Nigella sativa*), Teh hijau (*Camellia sinensis*), dan *Artemisia vulgaris*. Salah satu herbal yang sering dipakai adalah *Artemisia vulgaris*. *Artemisia vulgaris* memiliki efek sitotoksik yang selektif terhadap sel tumor dan sudah digunakan sebagai adjuvan pada kanker kolorektal, kanker ginjal, kanker prostat, kanker hepar, kanker pankreas, kanker kulit, dan kanker lambung. Pemanfaatan *Artemisia vulgaris* sebagai tanaman obat adjuvan kemoterapi untuk kanker payudara masih memerlukan suatu pembuktian. Suatu penelitian awal terhadap *Artemisia vulgaris* menunjukkan adanya kandungan golongan *terpenoid* (artemisinin, artesunate), *flavonoid*, *tanin* dan analog *coumarin* (*scopoletin*). Artemisinin dan artesunate sudah digunakan sebagai obat antimalaria, namun juga menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker melalui induksi apoptosis dan menghambat aktivitas angiogenesis, disrupti siklus sel kanker, dan toksisitas

radikal bebas. Meskipun bersifat sitotoksik, artemisinin memiliki keuntungan dapat digunakan sebagai antikanker karena memiliki sifat toksik yang selektif. Hal ini menjadi pertimbangan penting dalam hal keamanan bagi para penggunanya. Sifat sitotoksik yang selektif pada *Artemisia vulgaris* menjadi faktor pendukung dilakukan penelitian pedahuluan pada tahap pre-klinik.⁶

Penelitian sebelumnya yang dilakukan pada mencit dengan karsinoma hepar, dengan dosis 100mg/kg per hari artemisinin menunjukkan aktivitas antikanker.⁷

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Dari hal-hal yang tersebut di atas maka dapat kami rangkum beberapa permasalahan yaitu :

1.2.1 Masalah umum

Apakah ekstrak *Artemisia Vulgaris* dapat meningkatkan efek apoptosis *Adriamycin-Cyclophosphamide* pada adenokarsinoma mammae mencit C3H?

1.2.2 Masalah khusus

1. Apakah terdapat peningkatan ekspresi *P53* antara adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* dan yang diberi tambahan ekstrak *Artemisia Vulgaris*?
2. Apakah terdapat peningkatan ekspresi *Caspase-8* antara adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* dan yang diberi tambahan ekstrak *Artemisia Vulgaris*?
3. Apakah terdapat hubungan antara ekspresi *P53* dan *Caspase-8* pada adenokarsinoma mamme mencit C3H yang diberi kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* dan yang diberi tambahan ekstrak *Artemisia Vulgaris*?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Menganalisis peningkatan efek apoptosis *Adriamycin-Cyclophosphamide* pada adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi ekstrak *Artemisia Vulgaris*

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisis peningkatan ekspresi *P53* antara adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* dan yang diberi tambahan ekstrak *Artemisia Vulgaris*
2. Menganalisis peningkatan ekspresi *Caspase-8* antara adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* dan yang diberi tambahan ekstrak *Artemisia Vulgaris*
3. Menganalisis hubungan antara ekspresi *P53* dan *Caspase-8* pada adenokarsinoma mammae mencit C3H yang diberi kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamide* dan yang diberi tambahan ekstrak *Artemisia Vulgaris*

1.4. MANFAAT PENELITIAN

Apabila *Artemisia Vulgaris* pada penelitian ini terbukti dapat meningkatkan aktifitas sel mononuklear dalam menghambat pertumbuhan sel adenokarsinoma mammae pada mencit C3H maka *Artemisia Vulgaris* dapat dimanfaatkan sebagai kemoterapi maupun kemo prevensi terhadap penderita dengan resiko tinggi kanker payudara dan terapi adjuvan pada kanker payudara stadium awal. Diharapkan *Artemisia Vulgaris* ini dapat menggantikan atau menjadi obat yang sinergi terhadap sitostatika yang sudah ada pada saat ini.

Penelitian ini akan menambah khasanah ilmu, baik di bidang onkologi, imunologi dan di bidang pengobatan herbal. Sumbangan ilmu terutama di siklus sel eukariot dalam kaitannya dengan sel tumor.

1.5. ORISINALITAS PENELITIAN

Penelitian ini berbeda dari sebelumnya karena pada penelitian ini dilakukan pada mencit C3H dengan adenokarsinoma mammae yang diberi *Adriamycin-Cyclophosphamide*. Variabel yang diteliti yaitu ekspresi *P53* dan *Caspase-8*.

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian

Penulis	Judul / Penerbit	Hasil
Eunjeong C, Gunhee K	Effect of Artemisia species on cellular proliferation and apoptosis in human breast cancer cells via estrogen receptor-related pathway. J Tradit Chin Med. 2013 Oct;33(5):658-63	Artemisia spesies memiliki efek anti kanker dengan proses apoptosis melalui pathway yang berhubungan dengan Estrogen Reseptor
Sharmila K, Padma PR	Anticancer activity of Artemisia vulgaris on hepatocellular carcinoma (HEPG2) cells. Int J Pharmacy and Pharmaceutical Sci. 2013;5(3):479-483	Ekstrak daun Artemisia vulgaris memiliki potensi sebagai agen anti kanker.
Saleh AM, Aljada A, Rizvi SA, Masr A, Alaskar AS, William JD	Invitro cytotoxicity of Artemisia vulgaris essential oil is mediated by a mitochondria-dependent apoptosis in HL-60 leukemic cell line. BMC Compl and Alternative Med 2014; 14:226	Komposisi Artemisia vulgaris berperan sebagai pemicu apoptosis pada beberapa sel kanker dengan sitotoksitas yang rendah pada sel normal.
Michaelsen FW, Saeed ME, Schwarzkopf J, Efferth T	Activity of Artemisia annua and artemisinin derivatives in prostate carcinoma. Phytomedicine. 2015 Dec 15; 22(14):1223-31	Pengobatan jangka panjang dengan kapsul A. annua dikombinasi dengan Bicalitumide menyebabkan regresi dari karsinoma prostat stadium lanjut.
Adi Prayitno, Ruben Darmawan, Istar Yuliadi, Imbar Mudigdo	The expression of p53, Rb, and c-myc protein in cervical cancer by immunohistochemistry stain	Ekspresi rata-rata protein p53 adalah 40%, Rb adalah 30,8% dan c-myc adalah 50,1%, sehingga disimpulkan bahwa ekspresi protein p53, Rb dan c-myc pada kanker serviks uteri berkategori sedang (30-70%).
Kalvin QT, Antony S, Gary LF	Artemisinin triggers a G1 cell cycle arrest of human Ishikawa endometrial cancer cells and inhibits Cyclin Dependent Kinase-4 promoter activity and expression by disrupting NF-kB transcriptional signaling. Anticancer Drugs. 2014 March; 25(3):270-281	Artemisinin adalah komponen anti kanker yang menjanjikan dan berpotensi untuk dikembangkan untuk karsinoma endometrium.

Eiki Y, Temesgen H, Dolphine O	Artemisinin : An alternative treatment for oral squamous cell carcinoma. <i>Anticancer Research</i> . 2004 24:2153-2160	Artemisinin bersifat sitotoksik terhadap sel skuamus karsinoma oral dan membunuh sel kanker lebih melalui apoptosis daripada nekrosis bila diberikan bersama 5-FU.
Ji Hui Du et al	Artesunat induces oncosis-like cell death in vitro and has antitumor activity against pancreatic cancer xenograft in vivo. <i>Cancer Chemother Pharmacol</i> . 2010. 65:895-902	Artesunat menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker pankreas pada manusia
Sanjeev Krishna et al	A Randomised, Double Blind, Placebo Controlled Pilot Study of Oral Artesunat Therapy for Colorectal Cancer. <i>EBioMedicine</i> 2015. 82-90	Artesunat bermanfaat bagi karsinoma kolorektal dan mengurangi metastasis ke hepar pada penelitian terhadap binatang.
Vandewynckel YP et al	Therapeutic Effect of Artesunate in Hepatocellular Carcinoma	Artesunat dapat menjadi alternatif terapi terhadap karsinoma hepatoseluler.
Zhou X et al	Artesunate inhibits the growth of gastric cancer cells through the mechanism of promoting oncosis both in vitro and in vivo. <i>Anticancer Drugs</i> . 2013 Oct; 24(9):920-7	Artesunate memiliki aktivitas inhibisi yang bergantung pada konsentrasi terhadap kanker lambung dengan mempengaruhi onkosis sel melalui kalsium, vascular endothelial growth factor, dan ekspresi calpain-2.
Chun-Long Li et al	Effect of Scopoletin on Apoptosis and Cell Cycle Arrest in Human Prostate Cancer Cell In Vitro. <i>Tropical Journal of Pharmaceutical Research</i> . April 2015; 14(4):611-617	Scopoletin dapat digunakan sebagai kemoterapi alami terhadap kanker prostat.

Penelitian ini adalah penelitian payung dengan penelitian-penelitian lain mengenai efektifitas ekstrak *Artemisia Vulgaris*. Dari penelitian-penelitian sebelumnya belum ada yang meneliti efektifitas ekstrak *Artemisia Vulgaris* sebagai adjuvan kemoterapi adenokarsinoma mammae untuk peningkatan ekspresi *P53* dan *Caspase-8* pada mencit C3H yang diberi regimen kemoterapi *Adriamycin-Cyclophosphamid*.