

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit kronis penyebab kedua kematian di dunia (WHO, 2018). Kanker ditandai dengan pertumbuhan sel abnormal yang memiliki sifat *anaplastic*, invasi, dan dapat bermetastasis. Berdasarkan letaknya, kanker dapat dibagi menjadi beberapa jenis yaitu karsinoma (jenis yang berasal dari sel yang melapisi permukaan tubuh atau permukaan saluran tubuh), limfoma (jenis yang berasal dari jaringan yang membentuk darah), leukemia (jenis yang tidak berbentuk massa tumor, tetapi memenuhi pembuluh darah dan mengganggu fungsi sel darah normal), sarkoma (jenis yang terjadi pada jaringan penunjang yang berada di permukaan tubuh), dan glioma (kanker susunan saraf) (Ariani, 2015). Tahun 2020, jumlah total kasus baru kanker dan kematian yang diakibatkan kanker mencapai 19.292.789 kasus dan 9.958.133 kematian (GLOBOCAN, 2020). Jumlah kematian ini diperkirakan akan terus meningkat hingga tahun 2030 dengan jumlah lebih dari 13,1 juta kematian.

Salah satu jenis kanker yang sering menyerang wanita adalah kanker serviks. Di Indonesia, kasus kanker serviks menempati peringkat kedua dengan jumlah kasus baru sebesar 36.633 kasus (9,2%) dan jumlah kematian yang menduduki peringkat ketiga dengan jumlah 21.003 kematian (9.0%) (GLOBOCAN, 2020). Jika dibandingkan dengan negara maju, tingkat mortalitas kanker serviks sepuluh

kali lebih tinggi (80%) pada negara berkembang (Haie-Meder *et al.*, 2010). Pertumbuhan sel-sel abnormal pada jaringan leher rahim (serviks), dimana pada sel permukaan (epitel) mengalami penggandaan dan perubahan sifat tidak seperti sel normal disebut kanker serviks. Onkoprotein *Human Papilloma Virus* (HPV) telah banyak dibuktikan menjadi komponen penting dari proliferasi sel kanker (Schorge *et al.*, 2008). Tipe HPV yang berhubungan dengan kanker serviks yaitu HPV tipe 6 dan 11 (kelompok risiko rendah) serta HPV 16 dan 18 (kelompok risiko tinggi) (*American Cancer Society*, 2013). Sekitar 95% HPV risiko tinggi seperti tipe 16 dan 18 berperan dalam kasus kanker serviks di seluruh dunia (Mahendra, 2012).

Beberapa strategi yang dikembangkan untuk menyembuhkan kanker yaitu pembedahan, radiasi dan kemoterapi. Perlakuan utama dalam pengobatan kanker termasuk kanker serviks adalah dengan kemoterapi. Kemoterapi merupakan pengobatan yang dilakukan untuk membunuh sel kanker yang menyebar di dalam tubuh (Handayani, 2012). Namun, dalam penggunaan kemoterapi juga kerap diikuti dengan munculnya efek samping seperti kebotakan, kulit keriput, mual dan muntah, kerusakan sel-sel normal serta terjadinya kemoresisten pada sel kanker serviks (King *et al.*, 2006). Oleh karena itu, perlu dilakukannya penelitian uji potensi obat antikanker dengan inovasi eksplor bahan alam salah satunya menggunakan tanaman yang diharapkan dapat mampu meminimalisir pertumbuhan atau pembelahan sel kanker terutama pada kanker serviks dengan efek samping yang lebih minimal.

Tercantum didalam Al-Qur'an pada surat Asy-syu'ara ayat 7-8. Allah SWT berfirman:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۗ إِنَّ فِي ذَلِكَ
لَآيَةً^ط وَمَا كَانَ أَكْثَرُ هُمْ مُؤْمِنِينَ ۘ

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuhan-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah SWT. Dan kebanyakan mereka tidak beriman”. (Q.S. Asy-syu'ara: 7-8).

Telah dijelaskan pada ayat tersebut bahwa Allah SWT telah menyiapkan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik ini dimaksudkan sebagai tumbuhan yang bermanfaat bagi makhluk hidup, salah satunya dapat digunakan sebagai pengobatan dalam menyembuhkan penyakit. Hal tersebut merupakan anugerah dari Allah SWT yang harus dipelajari serta dimanfaatkan berdasarkan perintah didalam Firman-Nya.

Indonesia merupakan negara megabiodiversitas. Jenis tanaman yang ada di Indonesia sangat melimpah diantara nya memiliki potensi dalam pengobatan, salah satu nya dalam terapi kanker. Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) ialah salah satu tumbuhan Indonesia yang dapat dikembangkan sebagai kandidat alternatif antikanker. Kandungan senyawa bioaktif yang ada pada melinjo, contohnya saponin, stilbenoid, flavonoid, tanin (Barua *et al.*, 2015). Salah satu kandungan

umum pada biji melinjo yaitu stilbenoid, derivat stilbenoid yang cukup banyak di dapatkan yaitu resveratrol (Konno *et al.*, 2013). Sedangkan untuk kandungan lainnya yaitu gnetin C, gnemonoside L, gnemonoside M, gnemonoside D, gnetin E dan isorhapontigenin (Kato *et al.*, 2011). Senyawa stilbenoid diketahui berpotensi sebagai antikanker dengan cara menginduksi apoptosis sel kanker (Kato *et al.*, 2011). Resveratrol adalah *phytoalexin stilbene* alami yang terkenal memiliki efek antioksidan, anti-inflamasi, dan antikanker (Xue *et al.*, 2014). Kemudian daun melinjo diketahui memiliki kandungan lemak total sebesar 1,30 g (1,94%) yang didapatkan dari 100 gr daun melinjo segar (Kemenkes RI, 2018). Terdapat penelitian yang mengemukakan bahwa ekstrak etanol daun melinjo mengandung *2,3-dihydroxypropyl icosanoate*, asam oleat dan *ursolic acid* (Dutta *et al.*, 2018). Asam oleat merupakan salah satu golongan asam lemak tak jenuh berantai tunggal. Lalu, pada bagian lain tumbuhan melinjo yaitu biji diketahui juga mengandung lemak dengan presentase yang lebih besar jika dibandingkan dengan daun yaitu sebesar 16,4% (Kemenkes RI, 2018). Sejauh ini belum terdapat penelitian yang mengatakan jenis lemak yang terkandung dalam bagian biji juga berjenis asam oleat. Namun, bercermin pada besarnya jumlah persentase kandungan lemak pada biji maka dapat diperkirakan bahwa berkemungkinan besar biji juga mengandung jenis lemak asam oleat. Terdapat penelitian menunjukkan beberapa asam lemak tak jenuh rantai tunggal berperan menginduksi apoptosis sel kanker melalui pelepasan kalsium dari *intracellular*. Termasuk asam oleat yang memiliki peran menginduksi apoptosis di *carcinoma*

cell serta dapat menghambat proliferasi *cell* pada tumor *cell lines* (C. Carrillo & Alonso-Torre, 2012). Penelitian ini memfokuskan penelusuran aktivitas antikanker senyawa resveratrol dan asam oleat dari fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap sel kanker HeLa yang diawali dengan uji identifikasi kandungan senyawa menggunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Kemudian, Uji terkait sitotoksisitas menggunakan metode *Microtetrazolium* (MTT) *Assay*. Lalu, uji migrasi sel menggunakan metode *scratch wound healing assay*. Setelah itu, dilakukan uji *in silico* menggunakan metode bioinformatika (STITCH-STRING) untuk mengetahui jenis-jenis protein target. Kemudian dilanjutkan menggunakan *molecular docking* metode *Autodock Vina*. Penelitian ini diharapkan dapat mendukung penelitian sebelumnya dalam upaya pengembangan dan penelusuran khasiat biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang berperan sebagai obat antikanker.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah

1. Apakah fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung senyawa resveratrol dan asam oleat berdasarkan metode HPLC?
2. Apakah fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker HeLa berdasarkan metode MTT *Assay*?

3. Apakah fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki aktivitas penghambatan pada migrasi sel HeLa berdasarkan metode *Scratch Wound Healing Assay*?
4. Jenis protein apa sajakah yang menjadi target senyawa resveratrol dan asam oleat pada biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) berdasarkan metode bioinformatika (STITCH-STRING)?
5. Apakah senyawa resveratrol dan asam oleat pada biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memiliki afinitas ikatan dalam menghambat protein hasil uji STITCH-STRING yang dipilih berdasarkan *molecular docking*?

C. Keaslian Penelitian

Terdapat beberapa penelitian terdahulu yang telah meneliti terkait pemanfaatan tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dalam penyakit kanker salah satunya pada bagian biji melinjo, tetapi sejauh pencarian peneliti belum ada penelitian yang sama dengan penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti. Penelitian yang pernah dilakukan antara lain:

1. Walidah, *et al* (2017) “Pengkajian Efek Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum Gnemon* L.) sebagai Antimetastasis melalui Pengamatan Migrasi Sel dan Ekspresi MMP-2 Dan MMP-9 Pada Sel Kanker Payudara MCF-7/HER2”. Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dengan menggunakan metode *MTT Assay* untuk uji sitotoksik. Profil fitokimia EBM (ekstrak biji melinjo) diuji menggunakan metode KLT serta metode uji migrasi sel dengan *scratch wound healing assay*. *Cell line*

yang digunakan adalah MCF-7/HER2. Hasil penelitian uji sitotoksik didapatkan nilai IC50 sebesar 90 $\mu\text{g/mL}$. EBM menunjukkan penghambatan migrasi dengan perlakuan kombinasi EBM 22,5 $\mu\text{g/mL}$ dan *doxorubicin* 10 nM. Sedangkan perlakuan tunggal EBM dan kombinasi dengan *doxorubicin* mampu menurunkan ekspresi MMP-9. Disimpulkan bahwa EBM berpotensi sebagai agen antikanker pada sel kanker payudara melalui penghambatan migrasi sel MCF-7/HER2. Persamaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu menggunakan ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.), menggunakan metode MTT Assay untuk uji sitotoksik. Metode uji migrasi sel dengan *scratch wound healing assay*. Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu *cell line* yang akan digunakan yaitu sel HeLa, identifikasi kandungan senyawa menggunakan metode HPLC, serta menambahkan uji *in silico* menggunakan metode bioinformatika dan *molecular docking*.

2. Hermawan, *et al* (2021) “*Identification of potential therapeutic target of naringenin in breast cancer stem cells inhibition by bioinformatics and in vitro studies*” senyawa yang diteliti yaitu naringenin yang merupakan golongan flavonoid dari tanaman jeruk. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi target terapeutik naringenin (PTTN) dalam menghambat *breast cancer stem cell* (BCSC) yang dilakukan menggunakan metode studi bioinformatika dan *3D tumorsphere in vitro modeling*. STITCH-STRING sebagai metode bioinformatika dan *in vitro modeling* dengan sitotoksisitas berbasis MTT, potensi pembentukan mamosfer (MFP),

pembentukan koloni, *scratch wound-healing assay*, and *flow cytometry-based cell cycle analyses* and *apoptosis assays*. Analisis bioinformatika mengungkapkan bahwa p53 dan estrogen reseptor *alpha* (ER α) sebagai PTTN, dan analisis pengayaan jalur KEGG mengungkapkan bahwa jalur TGF- β dan Wnt / β -catenin diatur oleh PTTN. Naringenin menunjukkan sitotoksitas dan menghambat pembentukan mammosfer dan koloni, migrasi, dan transisi epitel ke mesenkim di mammosfer. Dengan memodulasi mRNA P53 dan ER α , naringenin berpotensi menghambat BCSC. Studi lebih lanjut tentang mekanisme molekuler dan formulasi naringenin dalam BCSC akan bermanfaat untuk pengembangannya sebagai obat penargetan BCSC. Persamaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu menggunakan metode bioinformatika STITCH-STRING, uji sitotoksik dengan MTT Assay, dan *scratch wound-healing assay*. Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu senyawa yang akan diteliti yaitu resverator dan asam oleat dari biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.), *cell line* yang akan digunakan yaitu sel HeLa, serta uji *in silico* tambahan menggunakan metode *molecular docking*.

3. Jiang, *et al* (2017) “*Oleic acid induces apoptosis and autophagy in the treatment of Tongue Squamous cell carcinomas*”. Tujuan penelitian ini adalah untuk menyelidiki efek antikanker *oleic acid* (OA) dan mekanismenya dalam *tongue squamous cell carcinoma* (TSCC). Penelitian dilakukan dengan metode *cell counting kit-8 assay* dan *edu assay*. Hasil penelitian

menunjukkan bahwa OA secara efektif menghambat proliferasi sel TSCC berdasarkan pada dosis dan waktu. Perlakuan OA di TSCC secara signifikan menginduksi siklus sel penangkapan G0/G1, meningkatkan proporsi sel apoptosis, menurunkan ekspresi *Cyclin D1* dan *Bcl-2*, dan meningkatkan ekspresi *p53* dan *caspase-3* yang terpecah. OA juga secara nyata menginduksi pembentukan autolisosom dan menurunkan ekspresi *p62* dan rasio *LC3 I / LC3 II*. Ekspresi *p-Akt*, *p-mTOR*, *p-S6K*, *p-4E-BP1* dan *p-ERK1 / 2* secara signifikan menurun pada sel TSCC setelah pengobatan dengan OA. Hasil di atas menunjukkan bahwa OA memiliki efek antikanker yang kuat di TSCC dengan menginduksi apoptosis dan *autophagy* melalui pemblokiran jalur *Akt/mTOR*. Persamaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu menggunakan asam oleat. Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu *cell line* yang akan digunakan yaitu sel HeLa, serta uji *in silico* tambahan menggunakan metode *molecular docking* dan uji bioinformatika.

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Mengetahui efek fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) sebagai agen antikanker terhadap kanker serviks.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui kandungan senyawa resveratrol dan asam oleat dalam fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) menggunakan metode HPLC.
- b. Untuk mengetahui aktivitas sitotoksik pada fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) pada sel kanker HeLa berdasarkan metode MTT Assay.
- c. Untuk mengetahui aktivitas penghambatan pada fraksi etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) pada migrasi sel HeLa berdasarkan metode *scratch wound healing assay*.
- d. Untuk mengetahui jenis-jenis protein yang menjadi target senyawa resveratrol dan asam oleat pada biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) berdasarkan metode bioinformatika (STITCH-STRING).
- e. Untuk mengetahui tingkat afinitas ikatan senyawa resveratrol dan asam oleat pada biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) dalam menghambat protein hasil uji STITCH-STRING yang dipilih berdasarkan *molecular docking*. Serta mengetahui perbedaan hasil *docking* dari kedua senyawa tersebut.

E. Manfaat Penelitian

1. Sebagai tambahan informasi bagi masyarakat terkait khasiat biji melinjo (*Gnetum gnemon L.*) sebagai agen antikanker pada kanker serviks.

2. Sebagai data ilmiah untuk memperkuat hasil penelitian sebelumnya serta dapat menjadi sumber referensi pada penelitian selanjutnya dalam pengembangan pengobatan kanker dari tanaman melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

