

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Penelitian

Kanker menjadi salah-satu penyakit dengan mortalitas paling tinggi di dunia. Pada tahun 2020, terdapat setidaknya 10 juta kasus kematian akibat kanker, dengan kanker paru sebagai pemicu kematian terbanyak yaitu sekitar 1,80 juta kematian. Hingga saat ini, kanker paru menduduki peringkat dua prevalensi kanker tertinggi yaitu sekitar 2,21 juta kasus di seluruh dunia (*World Health Organization, 2022*). Menurut *International Agency for Research On Cancer (2020)*, di Indonesia kanker paru menduduki prevalensi ketiga terbesar sebanyak 34.783 kasus.

Kanker paru ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dalam jaringan paru-paru. Penyebab utama kanker paru adalah kebiasaan merokok. Faktor pemicu lain adalah paparan gas beracun, paparan asbestos, polusi, asap rokok (*second-hand smoker*). Patofisiologi kanker paru jenis *Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSLC)* diawali dengan aktivasi onkogen seperti K-ras proto-onkogene yang memicu adenokarsinoma pada 10-30% kasus, serta gen EML4-ALK tirosin kinase. Selain itu, kanker paru juga dipengaruhi oleh inaktivasi gen penekan tumor yang dipicu oleh perubahan epigenetik dan mutasi pada beberapa gen seperti *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)*, Her2/neu, MET, NKX2-1, LKBI, PIK3CA, dan BRAF (Mustafa dkk., 2016). Sementara itu, perkembangan *Small-Cell Lung Carcinoma (SCLC)* diawali dengan gangguan pertumbuhan sel pada saluran

pernafasan tengah seperti sel klub dan neuroepitel yang membentuk jaringan pensекреksi protein (Mulvihill dkk., 2013). Terkait perluasan atau metastasis kanker paru dipengaruhi oleh aktivasi protein *signaling pathway* seperti Akt/GSK3Beta, MEK-ERK, Fas, dan Par6 (Powell dkk., 2013).

Terapi kanker melibatkan beberapa metode seperti terapi radiasi, operasi, imunoterapi, terapi endokrin, terapi gen, dan kemoterapi. Hingga saat ini, kemoterapi menjadi metode terapi kanker yang paling banyak digunakan (Bukowski dkk., 2020). Terdapat kelemahan dalam kemoterapi diantaranya adalah resistensi obat dan toksisitas. Kegagalan kemoterapi pada 90% kasus terjadi pada fase invasi dan metastasis kanker akibat resistensi sel kanker terhadap obat. Kasus resistensi terhadap obat kanker merupakan salah-satu masalah serius dalam bidang kanker (Mansoori dkk., 2017). Oleh karena itu, penelitian dan pengembangan senyawa dengan potensi antikanker perlu dilakukan untuk menemukan agen terapi baru yang berkhasiat preventif maupun kuratif terhadap kanker. Pengembangan terapi kanker dengan bahan-bahan alam perlu dipertimbangkan untuk dilakukan sebagai upaya untuk menghindari toksisitas sistemik dari kemoterapi. Selain itu kombinasi bahan alam dalam kemoterapi diharapkan dapat memperluas jendela terapi dan menurunkan resistensi obat (Lin dkk., 2020). Sekaitan dengan kandungan senyawa berkhasiat dari bahan alam khususnya tumbuhan, Allah SWT berfirman dalam Q.S. Asy-Syu'ara' (26) ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَذْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

(Q.S. Asy-Syu'ara' 26:7)

Selain itu, terkait pengembangan obat, Rasulullah SAW pernah bersabda:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya.” (HR Bukhari).

Ayat dan hadist tersebut menjelaskan terkait potensi tumbuh-tumbuhan dalam eksplorasi dan pengembangan obat-obatan dari bahan alam. Salah-satu tanaman yang mengandung beragam senyawa berkhasiat adalah tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron).

Tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleinii* Hieron) termasuk ke dalam Famili *Selaginellaceae* (Wang dkk., 2015). Tanaman yang tumbuh liar di area bebatuan, tebing, dan pesisir sungai ini juga dikenal dengan nama rumput Solo atau cemara kipas gunung (Oktavia & Sutoyo, 2021). Terdapat beberapa kajian yang menunjukkan aktivitas terapeutik cakar ayam seperti mengatur gula dan lemak darah, antioksidan, antivirus, serta antitumor (Brad dkk., 2017).

Ekstrak tanaman cakar ayam dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7, sel kanker paru A549, dan sel karsinoma nasofaring CNE1 dan CNE2 secara *in vitro*. Selain itu, tanaman cakar ayam

juga dapat menghambat berbagai enzim yang mempengaruhi pertumbuhan tumor seperti protein kinase C dan DNA polimerase. Tanaman cakar ayam juga dapat menghambat metastasis pada beberapa jenis sel (Li dkk., 2020)

Berdasarkan beberapa penelitian, tanaman cakar ayam mengandung beberapa senyawa yang mendukung aktivitas farmakologisnya, diantara senyawa tersebut adalah biflavonoid, alkaloid, xylogen, sterol, dan asam organik (Wang dkk., 2015). Dalam penelitian oleh Brad (2017), ditemukan 20 senyawa kimia dalam tanaman cakar ayam diantaranya asam lemak, β -sitronellol, beta-sitosterol, emodin, apigenin, asam ferulat, adenosin, asam vanilik, dan beberapa biflavonoid. Skrining fitokimia dari tanaman *Selaginella doederleini* Hieron menunjukkan kadar biflavonoid yang tinggi. Senyawa ini memiliki aktivitas antiinflamasi, antivirus, antioksidan, antikanker, serta antitumor yang kuat (Syaefudin dkk., 2016). Menurut Wang dkk. (2015), ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam menunjukkan aktivitas antitumor yang lebih kuat dibanding ekstrak etanol karena kandungan senyawa biflavonoid yang tinggi seperti amentoflvanon, robustaflavon, biapigenin, binaringenin, heveaflavon, dan tetra-ometil-amentoflavan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) terhadap sel kanker paru HTB-183. Metode yang digunakan adalah *HPLC* (*High Performace Liquid Chromatography*) untuk mengetahui kandungan senyawa biflavonoid pada tanaman, lalu dilanjutkan dengan uji *in vitro*

dengan metode *MTT Assay* dan uji penghambatan migrasi sel. Selain itu dilakukan uji *in silico* untuk mengetahui senyawa biflavonoid dalam tanaman cakar ayam yang memiliki aktivitas anti kanker paru berdasarkan metode bioinformatika *PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances)*, dan ikatan kandungan senyawa biflavonoid tersebut terhadap protein target pada sel kanker dengan metode bioinformatika *STITCH-STRING*, *molecular docking*, serta analisis profil farmakokinetik berdasarkan *Lipinski's Rule of Five* menggunakan metode *pkCSM (Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties)*. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi penelitian dan pengembangan tanaman herbal dalam terapi antikanker baik dalam bentuk pengobatan alternatif maupun komplementer.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) mengandung senyawa biflavonoid berdasarkan analisis *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*?
2. Apakah ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) bersifat sitotoksik pada sel kanker paru HTB-183 secara *in vitro* melalui metode *MTT Assay*?
3. Apakah ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) dapat menghambat migrasi sel kanker paru HTB-183 melalui metode *Wound Scratch Healing Assay*?

4. Apakah senyawa biflavonoid dari ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleinii* Hieron) memiliki aktivitas antikanker paru berdasarkan analisis bioinformatika *Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)*?
5. Apakah senyawa biflavonoid dalam ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) memiliki interaksi terhadap protein yang mempengaruhi sel kanker berdasarkan metode bioinformatika *STITCH-STRING*?
6. Apakah senyawa biflavonoid dalam ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) memiliki afinitas ikatan yang kuat dengan protein yang diperoleh dari metode bioinformatika *STITCH-STRING* berdasarkan analisis *molecular docking*?
7. Bagaimana sifat *druglikeness* berdasarkan *Lipinski's Rule of Five* dan profil farmakokinetik absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADMET) senyawa biflavonoid dalam ekstrak etil asetat cakar ayam (*Selaginella doederlinii* Hieron) di dalam tubuh berdasarkan analisis *pkCSM*?

C. Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Judul Penelitian	Hasil	Persamaan	Perbedaan
1.	<i>Ethyl Acetate Extract of Selaginella doederleinii Hieron Induces Cell Autophagic Death and Apoptosis in Colorectal Cancer via PI3K-AktmTOR</i> (Li dkk., 2020)	Pada analisis <i>HPLC</i> ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (<i>Selaginella doederleinii Hieron</i>) diidentifikasi 13 senyawa biflavonoid yaitu amentoflavon; robustflavon; 2'',3''-Dihidro-3', 3'''-biapigenin; 3',3'''-binaringenin; delicaflavon; unknown; hinokiflavon; 2,3-dihidrohinoikiflavon; chrysocauloflavon I; 2,3-dihidroisokriptomerin; robustaflavon 7,4'-dimetil eter; heveaflavon; and 7,4',7'',4'''-tetra-O-metil-amentoflavon. Sedangkan pada pengujian sitotoksik terhadap sel kanker kolorektal (HT29, HCT116, SW1116, SW480, dan SW620) dengan metode <i>MTT Assay</i> , diperoleh nilai IC ₅₀ secara berturut-turut 17.43, 20.13, 78.12, 63.09, dan 65.24 µg/mL pada masing-masing lini sel.	Penelitian ini sama-sama menggunakan sampel yang ekstrak etil asetat <i>S. doederleinii</i> yang dianalisis dengan metode <i>HPLC</i> , uji Sitotoksik dengan metode <i>MTT Assay</i>	Pada penelitian oleh Li dkk. (2020), target sel yang menjadi objek penelitian adalah sel kanker kolorektal, sedangkan pada penelitian ini digunakan sel kanker paru. Selain itu, juga digunakan metode <i>in silico</i> dan penghambatan migrasi sel.
2.	<i>Biflavonoid compounds from Selaginella doederleinii Hieron as anticancer agents of hormone receptor-positive (HR+) breast cancer based on in silico study</i> (Pinanti dkk., 2021)	Pada analisis dengan <i>molecular docking</i> dan protein interaction network analysis, senyawa kandungan <i>S. doederleinii</i> yang paling potensial terhadap penghambatan protein ER-alfa serta afinitas ikatannya adalah 3',3'''-binaringenin (-10 kcal/mol), hinokiflavon (-10,0 kcal/mol), dan 2,3-dyhidrohinoikiflavon (-9,9 kcal/mol). Sedangkan amentoflavon dengan afinitas ikatan -9,4 kcal/mol dan hinokiflavon dengan afinitas -9,7 kcal/mol merupakan senyawa yang paling efektif dalam menghambat CDK 6 berdasarkan afinitas ikatan	Pada kedua penelitian, senyawa yang di- <i>docking</i> adalah biflavonoid dari tanaman <i>Selaginella doederleinii</i>	Penelitian Pinanti dkk., (2021), hanya menggunakan <i>molecular docking</i> dalam metode <i>in silico</i> sedangkan pada penelitian ini dikombinasikan

yang tinggi dan kesamaan interaksi asam amino dengan senyawa Ribociclib sebagai senyawa kontrol.

metode bioinformatika dan analisis profil farmakokinetik senyawa biflavonoid untuk mendukung metode *molecular docking*.

3. *Effect of Selaginella doederleinii Ethyl Acetate Extract on Proliferation and Migration of HEP-2 Cells* (Ru yi dkk., 2017)

Pada pengujian ekstrak etil asetat *S. Doederleinii* dengan metode *MTT Assay* mampu menghambat proliferasi sel HEP-2 pada karsinoma laryngeal dengan IC_{50} 38.86 $\mu\text{g/ml}$, memicu inhibisi migrasi sel pada konsentrasi 7.8-500 $\mu\text{g/ml}$ dimana kemampuan inhibisi ini semakin kecil seiring berkurangnya dosis ekstrak. Ekstrak etil asetat *S. Doederleinii* juga mampu menghambat siklus sel dan mengaktifkan ekspresi protein p53 pada dosis 15, 30, dan 60 $\mu\text{g/ml}$

Kedua penelitian sama-sama menggunakan ekstrak etil asetat *S. Doederleinii* dengan metode *MTT Assay* dan Migrasi Sel

Antara penelitian Ru yi dkk. (2017), terdapat perbedaan pada jenis dan lini sel kanker yang diteliti, dimana pada penelitian ini, sel yang diteliti adalah sel Kanker paru HTB-183.

D. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui aktivitas dari ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) terhadap sel kanker paru HTB- 179

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui senyawa biflavonoid ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) mengandung berdasarkan analisis *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)*
- b. Untuk mengetahui sifat sitotoksik ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) pada sel kanker paru HTB-183 secara *in vitro* melalui metode *MTT Assay*
- c. Untuk mengetahui kemampuan menghambat migrasi sel kanker paru HTB-183 ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) melalui metode *Wound Scratch Healing Assay*
- d. Untuk menentukan senyawa biflavonoid dari ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) yang memiliki aktivitas antikanker paru berdasarkan analisis bioinformatika *Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS)*
- e. Untuk mengetahui senyawa biflavonoid dalam ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) yang memiliki interaksi terhadap protein yang mempengaruhi sel kanker berdasarkan metode bioinformatika *STITCH-STRING*

- f. Untuk mengidentifikasi afinitas ikatan senyawa biflavonoid dalam ekstrak etil asetat tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) dengan protein yang diperoleh dari metode bioinformatika *STITCH-STRING* berdasarkan analisis *molecular docking*?
- g. Untuk memprediksi sifat *druglikeness* berdasarkan *Lipinski's Rule of Five* dan profil farmakokinetik absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADMET) senyawa biflavonoid dalam ekstrak etil asetat cakar ayam (*Selaginella doederlinii* Hieron) di dalam tubuh berdasarkan analisis *pkCSM*

E. Manfaat

1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi tanaman cakar ayam (*Selaginella doederleini* Hieron) sebagai agen antikanker pada kanker paru
2. Menjadi dasar penelitian lebih lanjut mengenai potensi tanaman cakar ayam sebagai agen antikanker dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan pengembangan industri obat tradisional di Indonesia.
3. Menambah pengalaman mahasiswa dalam melakukan penelitian secara *in vitro* dan *in silico*.