

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karsinoma serviks merupakan salah satu jenis kanker yang paling umum terjadi pada perempuan dan menempati posisi keempat dalam kasus kanker perempuan yang sering terdiagnosis setelah kanker paru – paru, kanker kolorektum, dan kanker payudara.¹ Menurut WHO pada tahun 2014, dapat dipastikan lebih dari 1 juta perempuan dari seluruh dunia terkena karsinoma serviks. Banyak dari perempuan ini belum terdiagnosis ataupun mendapatkan akses untuk pengobatan yang dapat menyembuhkan atau memperpanjang hidup mereka.²

Pada tahun 2012, terdapat 528.000 kasus karsinoma serviks yang terdiagnosis dari seluruh dunia dengan mayoritas 85% berasal dari negara berkembang dan terdapat 266.000 kasus perempuan yang meninggal dikarenakan karsinoma serviks ini. Hampir 90 % dari mereka berasal dari negara berpendapatan rendah menuju menengah. Tanpa adanya perhatian lebih dari setiap negara dalam penanganan penyakit ini, kematian dikarenakan karsinoma serviks dapat meningkat hampir 25% dalam 10 tahun ke depan.² Menurut GLOBOCAN 2018, karsinoma serviks di Asia Tenggara menempati posisi ketiga setelah kanker paru – paru dan kanker payudara dilihat dari insidensi kanker pada perempuan.³ Di Indonesia, terdapat 32.469 kasus baru karsinoma serviks pada tahun 2018 dan menempati peringkat kedua setelah kanker payudara dalam penyakit kanker pada perempuan.⁴

Penyebab karsinoma serviks adalah transmisi *Human Papilloma Virus* secara seksual, terutama HPV tipe 16 dan 18 dengan prevalensi 70% sebagai penyebab karsinoma serviks.^{2,5-7} Wanita yang sering berhubungan seksual dengan berganti – ganti pasangan merupakan faktor risiko dari karsinoma serviks. Pada wanita yang terinfeksi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) akan lebih mudah untuk

terkena karsinoma serviks dikarenakan sistem imunnya yang turun.^{2,8} Selain HIV, kebiasaan merokok pun dapat meningkatkan risiko terkena karsinoma serviks dikarenakan zat karsinogeniknya dapat merusak DNA sel epitel skuamosa sehingga menimbulkan keganasan bersamaan dengan infeksi HPV itu sendiri.^{5,9}

Penatalaksanaan untuk karsinoma serviks dapat berupa operasi, radioterapi, dan kemoterapi.² Salah satu contoh obat kemoterapi yang dapat digunakan adalah doksorubisin. Namun, efek samping yang sering ditimbulkan dari pemakaian obat ini bila digunakan secara berkala adalah kardiotoxik.¹⁰⁻¹³ Untuk itu, perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai obat herbal yang dapat bekerja sinergis dengan doksorubisin sehingga dapat bekerja sebagai terapi suportif dan meminimalisir terjadinya efek samping dari doksorubisin.¹⁴

Sampai saat ini, penelitian mengenai herbal lebih banyak dilakukan pada kandungan *flavonoid* yang sering ditemukan dalam buah dan sayur - sayuran. *Flavonoid* merupakan senyawa antioksidan yang dapat berperan sebagai anti-inflamasi dan juga penghambat karsinogenesis.¹⁴⁻¹⁶ Salah satu contoh turunan senyawa dari flavonoid adalah apigenin. Apigenin merupakan golongan *flavone* dari flavonoid dan mempunyai efek terapeutik dalam penyakit kanker.¹⁷⁻²⁰ Hal ini dibuktikan dalam penelitian Budhraj A, *et al* pada tahun 2012, di mana apigenin dapat menginduksi jalur apoptosis pada sel leukemia secara *in vivo*.²¹ Apigenin juga dapat menghambat fungsi *Akt kinase* pada sel kanker payudara sehingga berujung pada apoptosis sel kanker tersebut. Penelitian ini dilakukan oleh Way T, *et al* pada tahun 2003.²² Penelitian pada kultur sel HeLa pernah dilakukan oleh Souza R, *et al* pada tahun 2016 dan terbukti bahwa apigenin dapat menurunkan viabilitas sel HeLa dengan dosis IC₅₀ (*Inhibition Concentration* terhadap 50% sel kanker yang hidup) apigenin 38 μ M pada inkubasi 24 jam.²³ Terhadap sel normal, apigenin mempunyai LC₅₀ (*Lethal Concentration* terhadap 50% sel normal yang hidup) 110 μ M., maka apigenin aman digunakan sebagai terapi anti-kanker.²⁴

Walaupun herbal dapat bersifat sitotoksik terhadap sel kanker, efek sitotoksik yang diberikan masih belum sebanding dengan kemoterapi. Untuk menanggulangi masalah tersebut, maka banyak penelitian yang dilakukan dengan mengkombinasi obat kemoterapi dan herbal yang dapat bekerja secara sinergis dalam membunuh

sel – sel kanker. Kombinasi doksorubisin dengan naringin, suatu kandungan flavonoid dari ekstrak buah *citrus*, menunjukkan efek sitotoksik yang lebih baik pada sel kanker HeLa dibandingkan dengan pemberian doksorubisin dan naringin secara terpisah. Penelitian ini dilakukan oleh Liu X, *et al* pada tahun 2017.²⁵ Penelitian lainnya oleh Liu R, *et al* pada tahun 2015 menunjukkan bahwa kombinasi apigenin dengan cisplatin meningkatkan apoptosis pada sel kanker HeLa dan *cell line* lainnya dengan cara mengaktivasi jalur p53.²⁶ Apigenin juga dapat berperan sebagai kardioprotektif dikarenakan senyawa ini dapat mencegah terbentuknya jaringan fibrotik pada jantung dengan cara menghambat terbentuknya stress oksidatif dalam proses inflamasi. Hal ini sudah pernah diteliti oleh Zare M, *et al* pada tahun 2019 dan Li F, *et al* pada tahun 2017.^{27,28}

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penulis bermaksud meneliti pengaruh kombinasi doksorubisin dengan apigenin dalam meningkatkan sitotoksisitas doksorubisin terhadap karsinoma serviks pada kultur sel HeLa dengan menggunakan Uji 3-(4,5-dimetilthiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromide (Uji MTT), yaitu suatu teknik pemeriksaan secara *in vitro* untuk menguji efek sitotoksisitas suatu bahan berdasarkan aktivitas mitokondria. Sebagai pembanding akan digunakan suatu obat kemoterapi, doksorubisin.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas akan dilakukan penelitian dengan menggunakan kombinasi doksorubisin dan apigenin dengan tujuan untuk mengurangi efek samping kardiotoxicitas dari doksorubisin dan memanfaatkan efek kardioprotektif dari apigenin, maka identifikasi masalah untuk penelitian ini adalah:

Apakah sitotoksisitas pada pemberian kombinasi doksorubisin dengan apigenin lebih tinggi dari doksorubisin tunggal terhadap karsinoma serviks pada kultur sel HeLa.

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sitotoksitas kombinasi doksorubisin dan apigenin dibandingkan dengan doksorubisin tunggal terhadap karsinoma serviks pada kultur sel HeLa.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademis

Manfaat akademis penelitian ini adalah untuk menambah wawasan dalam terapi karsinoma serviks dengan menggunakan terapi kombinasi berupa doksorubisin dan herbal yaitu apigenin.

1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat praktis penelitian ini adalah untuk menambah wawasan masyarakat umum dalam pengobatan kanker terutama karsinoma serviks dengan menggunakan obat herbal yaitu apigenin sebagai terapi suportif.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis Penelitian

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Virus HPV berperan dalam patogenesis karsinoma serviks, terutama HPV-16 dan HPV-18. HPV menginfeksi di stratum basalis epidermis serviks. Transmisi HPV ke dalam sel *host* yaitu dengan cara menempel pada reseptor proteoglikan. Setelah HPV masuk ke dalam sel, dimulailah replikasi DNA HPV, kemudian terjadi proses transkripsi dan terbentuklah protein E6 yang menghambat gen *p53* dan E7 yang menghambat gen *p21* dan *p27* serta mengikat protein RB yang sudah mengalami hipofosforilasi sehingga akan mengganggu proses regulasi

pertumbuhan dan diferensiasi sel dan sel akan berubah menjadi sel kanker yang immortal.^{29,30} Salah satu obat kemoterapi yang digunakan untuk karsinoma serviks adalah doksorubisin.

Doksorubisin merupakan suatu obat kemoterapi yang berasal dari golongan antrasiklin dan sering digunakan untuk kemoterapi berbagai macam kanker. Mekanisme kerja obat ini adalah interkalasi pada helix DNA yang akan menghambat proses replikasi dan transkripsi sehingga sintesis DNA, RNA, dan protein tidak dapat berlanjut dan menyebabkan sel dalam keadaan apoptosis. Selain itu, doksorubisin menghambat aktivitas enzim topoisomerase II yang berfungsi dalam proses religasi setelah pembelahan DNA. Terhambatnya enzim ini menghasilkan DNA yang *double strand break* (DSB). Pada akhirnya, kondisi tersebut membuat sel apoptosis. Walaupun mempunyai kelebihan seperti itu, doksorubisin seringkali menimbulkan efek samping berupa kardiotoxik.¹⁰⁻¹³ Itu sebabnya perlu dilakukan penelitian untuk memanfaatkan herbal sebagai terapi kombinasi dengan doksorubisin, antara lain dengan menggunakan apigenin.

Apigenin merupakan golongan *flavone* pada *flavonoid* yang memiliki sifat sebagai antioksidan. Pada sel kanker, apigenin menginduksi apoptosis dan autofagi yang berpengaruh pada inhibisi siklus sel serta migrasi dan invasi sel. Apoptosis dapat terjadi karena apigenin meningkatkan regulasi protein *pro-apoptosis* seperti Bad, Bak, Bax, Bid, dan Bim serta menurunkan regulasi protein *pro-survival* seperti Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w dan Mcl-1 pada jalur intrinsik. Apigenin meningkatkan regulasi caspase-8 dan caspase-3 sehingga apoptosis jalur ekstrinsik dapat teraktivasi. Dalam siklus sel, apigenin menginhibisi proliferasi sel kanker dengan menginduksi *cell cycle arrest* pada checkpoint G2/M, G0/G1 atau S. Apigenin dapat meningkatkan kepekaan respon imun terhadap sel kanker.¹⁷⁻¹⁹

Untuk melihat efek sitotoksisitas dari suatu herbal, dapat dilakukan uji dengan menggunakan kultur sel. Salah satu kultur sel karsinoma serviks yang sering digunakan untuk penelitian adalah kultur sel HeLa.³¹ Di dalam sel HeLa ini terdapat DNA HPV-18 yang dapat menyebabkan proliferasi sel terus menerus sehingga terbentuk *cell line* HeLa.³²⁻³⁴ Kultur sel HeLa sering digunakan dalam

pengembangan obat antikanker yang baru untuk memahami mekanisme kemoterapi dari obat tersebut.^{31,33,34}

Terdapat berbagai macam metoda untuk uji sitotoksitas, antara lain yang sering digunakan adalah uji MTT. Untuk uji sitotoksitas pada uji pendahuluan (apigenin dan doksorubisin masing-masing) dan kombinasi doksorubisin dengan apigenin akan digunakan uji MTT yaitu suatu uji *in vitro* berdasarkan prinsip mengukur kemampuan aktivitas seluler enzim mitokondria reduktase hasil metabolisme sel-sel hidup untuk mereduksi garam Methylthiazol Tetrazolium (MTT) yang berwarna kuning menjadi kristal formazan yang berwarna ungu. Intensitas warna ungu yang terbentuk sesuai dengan jumlah sel-sel hidup, semakin banyak jumlah sel-sel hidup maka intensitas warna ungu semakin tinggi.³⁵

1.5.2 Hipotesis Penelitian

Sitotoksitas pada pemberian kombinasi doksorubisin dengan apigenin lebih tinggi dari doksorubisin tunggal terhadap karsinoma serviks pada kultur sel HeLa.