

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Karsinoma *mammae* merupakan kanker yang paling sering terjadi di dunia. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2020 terdapat 2,3 juta wanita terdiagnosis karsinoma *mammae* dengan angka mortalitas sebanyak 685.000 jiwa di dunia. Pada akhir tahun 2020, terdapat 7,8 juta wanita didagnosis karsinoma *mammae* dalam kurun waktu 5 tahun terakhir (*World Health Organization*, 2021). Data dari GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada tahun 2022 menyatakan setidaknya karsinoma *mammae* menyumbang sekitar 2.261.419 (11,7%) total kasus baru kanker dan 684.996 (6,9%) total kasus kematian akibat kanker. Kemunculan kasus *karsinoma mammae* dapat terjadi sebanyak 1 dari 4 kasus kanker dan 1 dari 6 kematian akibat kanker di kalangan wanita, sehingga karsinoma *mammae* menduduki peringkat pertama untuk insiden kanker pada sebagian besar negara (Sung *et al.*, 2021).

Berdasarkan data dari GLOBOCAN, IARC pada tahun 2018 di Indonesia, karsinoma *mammae* merupakan kanker yang paling banyak ditemukan dengan angka kejadian sebesar 42,1 per 100.000 penduduk dengan angka kematian sebesar 17 per 100.000 penduduk (Kemenkes RI, 2020). Berdasarkan data yang bersumber dari Rumah Sakit Kanker Dharmais pada tahun 2018, karsinoma *mammae* merupakan kanker yang paling banyak ditemukan dengan persentase sebesar 19,18% dari seluruh jenis kanker (Pangribowo, 2019). Berdasarkan data dari GLOBOCAN pada tahun 2020, di Indonesia terdapat 65.858 (16,6%) kasus baru karsinoma *mammae* dengan angka kematian sebesar 22.430 (9,6%). Data tersebut menjadikan karsinoma *mammae* menduduki peringkat pertama dalam jumlah penemuan kasus baru beserta peringkat kedua dalam angka kematian akibat kanker di Indonesia (*The Global Cancer Observatory*, 2020).

Berdasarkan Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2019, tatalaksana karsinoma *mammae* dapat

dilakukan dengan pembedahan, terapi sistemik, terapi hormonal, terapi target, dan radioterapi (Panigro et al., 2019). Menurut *National Cancer Institute* (NCI), terapi target adalah jenis pengobatan kanker yang menargetkan protein yang mengontrol bagaimana sel kanker tumbuh, membelah, dan menyebar (*National Cancer Institute*, 2022). Saat ini, salah satu terapi target untuk karsinoma *mammae* adalah dengan menargetkan ekspresi berlebih protein HER2. Terapi target yang dapat diberikan antara lain *trastuzumab*, *petruzumab*, dan *lapatinib* (Masoud and Pagès, 2017).

*Human epidermal growth factor receptor-2* (HER2) adalah suatu proto-onkogen yang dipetakan ke dalam kromosom 17q21. Ikatan HER2 dengan reseptornya akan meregulasi pertumbuhan sel, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel. Ekspresi berlebihan dari gen *HER2* dapat mengganggu mekanisme homeostasis, sehingga berpotensi menyebabkan pembentukan sel tumor yang agresif (Yarden, 2001). Gen *HER2* teramplifikasi pada 15-20% karsinoma *mammae* yang invasif yang berkaitan erat dengan faktor prognosis yang buruk dan tingginya angka kekambuhan dan kematian (Ahn et al., 2020).

Seiring dengan tingginya angka kasus baru dan kematian akibat kanker, buruknya efek samping yang disebabkan beberapa obat-obatan kanker, dan semakin pesatnya perkembangan resistensi terhadap obat-obatan kanker maka dibutuhkan pengembangan obat baru terutama yang bersumber dari alam. Indonesia dikenal sebagai negara yang sangat kaya akan keanekaragaman hayati. Indonesia merupakan negara yang terletak di pusat segitiga terumbu karang (gudang keanekaragaman hayati dunia). Telah dilaporkan bahwa Indonesia adalah pengeksport teripang tertua dan utama di dunia. Tercatat sekitar 350 spesies teripang ditemukan di perairan Indonesia. Teripang juga dikenal sebagai “teripang atau trepang” dalam Bahasa Indonesia adalah invertebrata yang berada di laut, bertubuh lunak, dan berasal dari kelas Holothuroidea. Beberapa metabolit sekunder yang terkandung dalam teripang memiliki efek antikanker. Hal ini ditimbulkan karena kandungan metabolit aktif pada teripang dapat menghambat invasi dan metastasis sel kanker, mengurangi pertumbuhan sel kanker, mencegah angiogenesis, menginduksi apoptosis, menghambat siklus sel, memiliki efek sitotoksik, dan meminimalisir terjadinya resistensi terhadap *trastuzumab*, *petruzumab*, dan

*lapatinib* (Wargasetia and Widodo, 2017). Kandungan antikanker yang terdapat pada teripang antara lain *holothurin A (HA)*, *frondoside A*, *24-dehydroechinoside A (DHEA)*, *frondanol A5*, *okhtosides B*, *colochiroside A*, *cucumarioside A2–2*, *ds-echinoside A*, *echinoside A*, *glycosides 1 & 2*, *intercedensides A, B, and C*, *philinopside A*, *philinopside E*, *stichoposide C*, dan *stichoposide D* (Wargasetia et al., 2021).

Berdasarkan penelitian Khotimchenko pada tahun 2018, kandungan *triterpene glycosides* pada *Holothuria scabra* memiliki efek antiproliferasi dan efek sitotoksik terhadap beberapa jenis sel karsinoma. Beberapa jenis sel tersebut diantara lain adalah sel leukemia pada tikus (P-388), sel karsinoma paru manusia (A-549), sel karsinoma kolorektal pada manusia (HCT-116), sel kanker lambung (MKN28), dan sel kanker payudara manusia (MCF-7) (Khotimchenko, 2018). *Frondoside A* yang berasal dari *Cucumaria frondosa* dapat menginduksi apoptosis dengan cara mengaktivasi p53 serta secara signifikan meningkatkan aktivitas caspase-3/7 dan caspase-9 pada sel karsinoma *mammae* ER-MDA-MB-231 (Wargasetia et al., 2021). Data penelitian terdahulu juga melaporkan bahwa *Frondoside A* menghambat pertumbuhan tumor dan mengurangi volume tumor sebesar 87% pada model tikus *athymic* menggunakan sel kanker payudara MDA-MB-23 (Sajwani, 2019). MDA-MB-231 ialah sel kanker yang sangat invasif, merupakan *estrogen receptor  $\alpha$ -negative*, *progesterone receptor-negative*, dan *HER2-negative* yang dapat diklasifikasikan ke dalam sel *triple-negative breast cancer* (TNBC) (Brown et al., 2019).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* mengenai efek ekstrak metanol teripang dalam menurunkan ekspresi gen *HER2* pada mencit model karsinoma *mammae* sehingga dapat dijadikan pertimbangan sebagai terapi adjuvan dalam penatalaksanaan karsinoma *mammae*.

## 1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka identifikasi masalah penelitian ini adalah:

Apakah ekstrak metanol teripang dapat menurunkan ekspresi gen *HER2* pada mencit model karsinoma *mammae*.

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek ekstrak metanol teripang dalam menurunkan ekspresi gen *HER2* pada mencit model karsinoma *mammae*.

## 1.4 Manfaat Karya Tulis Ilmiah

### 1.4.1 Manfaat Akademis

Manfaat akademis penelitian ini adalah untuk menambah pengetahuan mengenai efek ekstrak metanol teripang dalam patogenesis karsinoma *mammae* dengan menurunkan ekspresi gen *HER2* pada mencit model karsinoma *mammae* dan diharapkan dapat menjadi acuan bagi penelitian selanjutnya.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

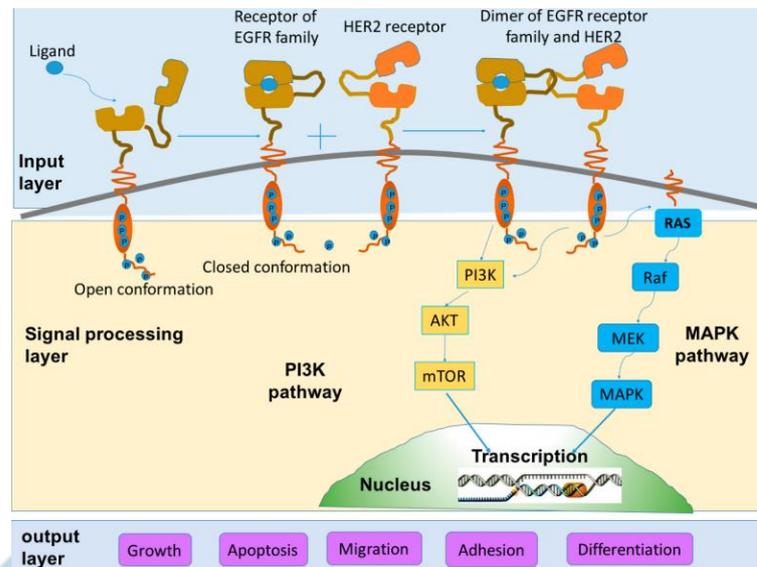
Manfaat praktis penelitian ini adalah untuk menambah wawasan masyarakat umum dalam pemanfaatan teripang sebagai terapi adjuvan karsinoma *mammae*.

## 1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis Penelitian

### 1.5.1 Kerangka Pemikiran

Karsinoma *mammae* dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor, salah satunya adalah terjadinya amplifikasi atau ekspresi berlebihan dari gen *HER2*. Ekspresi yang berlebihan dari gen *HER2* menyebabkan proliferasi dari sel tumor dan perkembangan sel kanker (Feng *et al.*, 2018). *HER2* merupakan bagian dari *human epidermal growth factor receptor* (*HER*). *HER* terdiri atas *HER1*, *HER2*, *HER3*, dan *HER4* yang berperan penting dalam patogenesis beberapa jenis kanker pada manusia. Keempat reseptor ini memiliki tempat pengikatan ligan ekstraseluler yang kaya sistein, segmen lipofilik transmembran, dan domain intraseluler dengan aktivitas katalitik tirosin kinase (Iqbal *and* Iqbal, 2014).

Pengikatan reseptor spesifik ligan pada domain ekstraseluler reseptor *epidermal growth factor receptor* (*EGFR*) akan menginduksi pembentukan homo dan heterodimer dari reseptor. Pembentukan homo atau heterodimer mengaktifasi tirosin kinase intraseluler dan juga memicu autofosforilasi residu tirosin spesifik. Fosforilasi residu tirosin akan merekrut protein adaptor atau enzim yang akan memulai serangkaian kaskade pensinyalan untuk mengatur proses seluler. Kaskade pensinyalan tersebut dapat ditransduksikan melalui setidaknya 2 jalur berbeda yaitu *phosphatidyl inositol 3-kinase* (*PI3K*)-Akt dan *Ras/Raf/mitogen-activated protein kinase* (*MAPK*). Induksi aktivitas pensinyalan *PI3K* distimulasi oleh heterodimer yang terdiri dari *HER2* dan *HER3*, sedangkan untuk pensinyalan *Ras/Raf/MAPK* dapat diaktivasi oleh semua dimer yang mengandung *HER2* (*HER1/HER2*, *HER2/HER2*, *HER2/HER3* dan *HER2/HER4*). Pada sel normal, kaskade pensinyalan ini akan dihentikan terutama dengan mengandalkan endositosis dari kompleks yang dibentuk oleh reseptor *EGFR* dan ligan yang sesuai. Akan terdapat dua kemungkinan yang dapat terjadi pada reseptor *EGFR* yaitu di daur ulang ke permukaan sel atau didegradasi oleh berbagai enzim. Dengan adanya hal ini, proses fisiologis seperti pembelahan sel, *survival*, proliferasi, dan apoptosis akan dipertahankan. Dalam keadaan normal alur pensinyalan ini penting dalam memelihara pertumbuhan sel yang normal. Tetapi pada keadaan ekspresi gen *HER2* yang berlebihan akan menyebabkan tumorigenesis dan metastasis (Lv *et al.*, 2016).



**Gambar 1.1** Diagram skematik jalur pensinyalan HER2 (Lv *et al.*, 2016)

Kehidupan laut menyimpan berbagai jenis biota laut yang memiliki kandungan metabolit bioaktif dan berpotensi sebagai zat anti-kanker. Teripang adalah salah satu biota laut berpotensi tinggi yang digunakan sebagai agen untuk melawan kanker. Teripang memiliki agen bioaktif yang berpotensi untuk melawan kanker melalui berbagai mekanisme, antara lain dengan menginduksi apoptosis, memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker, memicu *cell cycle arrest*, menghambat pertumbuhan sel tumor, mencegah resistensi pengobatan, bersifat anti-metastasis dan anti-angiogenesis (Wargasetia and Widodo 2017; Wargasetia *et al.*, 2021).

Mekanisme sitotoksik yang dimiliki oleh teripang dapat menghambat perkembangan kanker dengan menghalangi atau mencegah terjadinya pertumbuhan maupun mitosis dari sel kanker. Kandungan *Phillinopside E* yang berasal dari *Pentacta quadrangularis* menunjukkan aktivitas sitotoksik yang kuat pada beberapa *tumor cell line*, salah satunya pada tikus model *lymphocytic leukaemia cells-P388*. Apoptosis berperan penting dalam menekan perkembangan sel tumor dan karsinogenesis. *Phillinopside A* dan *E* yang diisolasi dari *Pentacta quadrangularis* dapat berperan sebagai zat anti-kanker karena dilaporkan dapat menginduksi

apoptosis pada *mouse Sarcoma-180 tumors* dan *tumor-associated endothelial cells*. *Cell cycle arrest* dapat mencegah pertumbuhan dan pembelahan sel kanker. *Cucumarioside A2-2* yang berasal dari *Cucumaria japonica* dapat memicu *cell cycle arrest* pada fase sintesis DNA (S) dan dapat menginduksi apoptosis pada *Ehrlich carcinoma mouse tumor cells* (Wargasetia and Widodo, 2017). Angiogenesis membantu sel tumor untuk bertahan hidup dan berproliferasi. Kandungan anti-angiogenik yang terdapat pada teripang dapat menghambat proses angiogenesis sehingga dapat mencegah suplai oksigen dan nutrisi mencapai sel kanker. Akibatnya, sel tumor akan kekurangan nutrisi dan akhirnya mati. Kandungan *Holothurin A* (HA) dan *24 dehydroechinoside A* (DHEA) yang berasal dari *Pearsonothuria graeffei* memiliki efek anti-angiogenik dan anti-metastasis karena dapat menekan *tube formation* sel ECV-304 pada Matrigel dan menghambat pembentukan pembuluh darah baru pada uji *chick embryo chorioallantoic membrane* (CAM) (Wargasetia and Widodo, 2017). Pada analisis *western blot*, HA dan DHEA dapat menekan ekspresi *vascular endothelial growth factor* (VEGF) yang merupakan salah satu komponen utama yang berperan dalam proses terjadinya angiogenesis (Lee *et al.*, 2015; Wargasetia and Widodo, 2017). Resistensi pada kemoterapi adalah masalah utama dalam pengobatan kanker. *Fronodoside A* yang berasal dari *Cucumaria okhotensis* dan *Cucumarioside A2-2* yang berasal dari *Cucumaria japonica* memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan kolesterol sehingga dapat memblokir transpor membran *P-glycoprotein* yang berakibat pada menurunnya kemungkinan resistensi terhadap pengobatan pada tumor asites yang berasal dari *Ehrlich ascites carcinoma mouse tumor model* (Wargasetia and Widodo, 2017).

Berdasarkan penelitian Khaledi *et al.* pada tahun 2022, ekstrak metanol teripang (EMT) dari *H. leucospilota* memiliki senyawa yang dapat mengaktifkan respons apoptosis pada *breast carcinoma cell line SK-BR-3* yang berasal dari payudara wanita dengan ekspresi gen *HER2* yang berlebihan. Hasil *MTT assay* menunjukkan EMT dapat menghambat perkembangan sel SK-BR-3 dengan menurunkan viabilitas sel secara *dose-dependent manner*. Pada hasil analisis *western blot*, EMT meningkatkan ekspresi protein pro-apoptosis Bax, *Caspase 3*, dan *Caspase 7* dan menurunkan ekspresi protein anti-apoptosis Bcl-2. Hal ini akan

meningkatkan rasio protein pro-apoptosis Bax/Bcl-2 yang akan menginduksi terjadinya apoptosis, sehingga dapat mencegah pertumbuhan dan perkembangan sel SK-BR-3. Berdasarkan hasil pada penelitian ini, terdapat peningkatan secara signifikan kadar *reactive oxygen species* (ROS) pada tingkatan intraseluler setelah 4 jam pemberian EMT. Peningkatan ROS akan menginduksi apoptosis sehingga akan menghambat sel SK-BR-3 untuk berkembang. Berdasarkan data-data penelitian yang ada, teripang memiliki potensi untuk melawan pertumbuhan dan perkembangan sel kanker melalui berbagai mekanisme, maka pada penelitian ini akan dilakukan pemeriksaan pengaruh ekstrak metanol teripang dalam menurunkan ekspresi gen *HER2* yang berperan dalam patogenesis karsinoma *mammae* (Khaledi *et al.*, 2022).

### 1.5.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah ekstrak metanol teripang menurunkan ekspresi gen *HER2* pada mencit model karsinoma *mammae*.