

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan salah satu tantangan terbesar dalam bidang onkologi modern, baik dari segi prevalensi, mortalitas, maupun efektivitas terapi. Berdasarkan laporan GLOBOCAN 2020, kanker payudara menempati urutan pertama dalam insiden kanker global dengan angka kejadian mencapai lebih dari 2,3 juta kasus baru dan hampir 685.000 kematian di seluruh dunia (Sung *et al.*, 2021). Tingginya prevalensi ini diiringi oleh fakta bahwa sebagian besar pasien kanker payudara terdiagnosis pada stadium lanjut atau telah mengalami metastasis (Setyawan *et al.*, 2023), yang secara signifikan memperburuk prognosis dan membatasi efektivitas pengobatan. Salah satu pendekatan terapi yang masih menjadi andalan hingga saat ini adalah kemoterapi berbasis doksorubisin (Mujwar *et al.*, 2023; Nicoletto & Ofner, 2022), namun penggunaannya dibatasi oleh efek toksik sistemik seperti terjadinya kardiotosisitas, serta resistensi sel kanker terhadap apoptosis (Angsutararux *et al.*, 2015; N. N. Chen *et al.*, 2023; Christowitz *et al.*, 2019; Rawat *et al.*, 2021; Zhao & Zhang, 2017).

Salah satu mekanisme utama kegagalan kemoterapi adalah resistensi terhadap apoptosis, perhatian khusus perlu diberikan pada peran molekuler dari jalur regulasi kematian sel. Apoptosis merupakan mekanisme penting dalam menjaga homeostasis jaringan, dan kegagalannya menyebabkan akumulasi sel abnormal serta resistensi terhadap terapi. Protein p53, yang dijuluki sebagai “*guardian of the genome*”, berperan penting dalam deteksi kerusakan DNA, aktivasi apoptosis, serta penghambatan siklus sel (Hu *et al.*, 2021; Rahman *et al.*, 2022). Namun, ekspresi

atau fungsi p53 sering kali terganggu dalam sel kanker, termasuk kanker payudara, yang menyebabkan sel-sel tersebut lolos dari program kematian sel terprogram dan terus berproliferasi (Duffy *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2019; Levine, 2022). Oleh karena itu, evaluasi ekspresi p53 menjadi sangat relevan dalam memahami efektivitas suatu agen antikanker, baik tunggal maupun kombinasi.

Selain jalur apoptosis, siklus sel memainkan peran sentral dalam proses proliferasi sel kanker. Siklin-siklin seperti *cyclin D* dan *cyclin E* bertanggung jawab dalam transisi fase G1 menuju fase S dalam siklus sel. Ekspresi yang berlebihan dari kedua protein ini telah dilaporkan sebagai ciri khas berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara tipe luminal seperti T47D (Otto & Sicinski, 2017; Visconti *et al.*, 2016). Disregulasi ekspresi siklin ini menyebabkan sel kanker mampu melampaui *checkpoint* fisiologis dan mempercepat replikasi DNA tanpa kontrol yang memadai (Qie & Diehl, 2016; Song *et al.*, 2024). Maka, evaluasi ekspresi *cyclin D₁* dan E serta distribusi fase sel menjadi parameter penting untuk menentukan mekanisme antiproliferatif dari agen uji (Singh *et al.*, 2024; Suski *et al.*, 2021).

Selanjutnya, dalam dinamika perkembangan kanker, tidak cukup hanya menghambat proliferasi; namun juga sangat penting untuk menghambat kemampuan migrasi dan invasi sel kanker. Migrasi sel merupakan tahap awal dari proses metastasis, yaitu pergerakan sel kanker dari lokasi primer menuju jaringan atau organ sekunder yang jauh. Proses metastasis ini bertanggung jawab atas lebih dari 90% kematian pasien kanker, termasuk kanker payudara (Guan, 2015; Riggio *et al.*, 2021). Migrasi sel kanker tidak terjadi secara acak, tetapi melibatkan serangkaian proses terkoordinasi seperti pelepasan adhesi sel, reorganisasi sitoskeleton, degradasi matriks ekstraseluler, serta aktivasi berbagai jalur pensinyalan molekuler,

termasuk jalur MAPK, PI3K/Akt, dan EMT (*epithelial–mesenchymal transition*) (Tahtamouni *et al.*, 2019). Aktivitas migrasi ini sangat dipengaruhi oleh keberlangsungan proliferasi, disregulasi siklus sel, dan kegagalan mekanisme apoptosis, sehingga keberhasilan penghambatan migrasi dapat menjadi indikator kuat potensi antimetastatik dari suatu agen antikanker (Anderson *et al.*, 2019; Gandalovičová *et al.*, 2017). Oleh karena itu, parameter migrasi memiliki nilai strategis dalam menilai efektivitas terapeutik senyawa uji, terutama dalam konteks pencegahan penyebaran sel kanker ke jaringan sekunder.

Seiring dengan itu, urgensi lain yang tak kalah penting adalah pengembangan obat antikanker yang memiliki selektivitas tinggi, yaitu kemampuannya untuk secara spesifik menyerang sel kanker tanpa menimbulkan efek toksik yang berarti pada sel normal. Selektivitas menjadi parameter utama dalam menilai keamanan dan potensi translasi klinis suatu senyawa, karena agen yang kurang selektif akan meningkatkan risiko kerusakan jaringan sehat, menurunkan kualitas hidup pasien, serta membatasi penggunaan jangka panjang (Fotie, 2024; Ioele *et al.*, 2022). Doxorubicin, meskipun telah lama digunakan sebagai kemoterapi lini pertama, diketahui memiliki toksisitas sistemik yang tinggi, terutama terhadap jaringan jantung, yang dapat menyebabkan kardiomiopati dan gagal jantung kongestif (Rawat *et al.*, 2021). Oleh karena itu, pengembangan agen kombinasi yang bersifat sinergis namun lebih selektif, seperti kombinasi antara doxorubicin dengan senyawa alami potensial, menjadi strategi yang menjanjikan (Elfadadny *et al.*, 2023; Talib *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2023). Pendekatan ini tidak hanya dapat menurunkan dosis efektif doxorubicin dan meminimalkan efek sampingnya, tetapi juga meningkatkan efikasi keseluruhan terapi melalui

mekanisme multiparameter yang saling melengkapi (Bayat Mokhtari *et al.*, 2017; Ghahremanloo *et al.*, 2025; Hanušová *et al.*, 2011).

Dalam pencarian agen alami potensial, tanaman *G. cowa.*, yang kaya akan senyawa bioaktif seperti xanthone dan benzofenon, telah menunjukkan potensi sebagai agen antikanker (Hefni *et al.*, 2020; Nguyen *et al.*, 2022; Ritthiwigrom *et al.*, 2013; Sriyatep *et al.*, 2014; Tayana *et al.*, 2017). Studi *in vitro* sebelumnya telah melaporkan aktivitas sitotoksik ekstrak dari bagian tanaman ini terhadap beberapa lini sel kanker, termasuk kemampuan menginduksi apoptosis dan menghambat proliferasi sel (Hefni *et al.*, 2020; Pattamadilok, 2016; F. S. Wahyuni *et al.*, 2012; F. S. Wahyuni, Shaari, *et al.*, 2015; Wirasti & Dachriyanus, 2015). Namun demikian, belum banyak penelitian yang secara komprehensif mengevaluasi efek ekstrak etanol kulit batang *G. cowa* dalam konteks kombinasi dengan doxorubicin, serta hubungannya dengan jalur apoptosis, siklus sel, migrasi, p53, dan siklin secara terpadu.

Oleh karena itu, penelitian ini dirancang untuk mengevaluasi aktivitas antikanker dari *G. cowa*, baik sebagai agen tunggal maupun dalam kombinasi dengan doxorubicin, terhadap sel kanker payudara T47D. Evaluasi mencakup: (1) uji sitotoksitas dengan MTT assay, (2) selektivitas terhadap sel normal (Vero), (3) uji migrasi sel (*scratch assay*), (4) analisis apoptosis (dengan pewarnaan AO/PI & *flow cytometry*), (5) distribusi siklus sel dan ekspresi *cyclin D* dan *cyclin E*, serta (6) ekspresi protein p53 menggunakan *flow cytometry*. Rangkaian pengujian ini diharapkan dapat menjawab pertanyaan mendasar mengenai efektivitas, keamanan, dan mekanisme molekuler dari GCBEE sebagai kandidat antikanker.

Penelitian ini bukan hanya bertujuan untuk mengidentifikasi agen alternatif

antikanker dari bahan alam, tetapi juga memberikan kontribusi ilmiah yang kuat dalam memahami interaksi kompleks antara apoptosis, regulasi siklus sel, migrasi, dan selektivitas sitotoksik dalam konteks pengembangan terapi kombinasi. Dengan memanfaatkan pendekatan molekuler dan seluler yang komprehensif, diharapkan hasil penelitian ini dapat menutup kesenjangan ilmiah (*knowledge gap*) yang masih ada dalam pemanfaatan *G. cowa* sebagai terapi adjuvan kanker payudara, serta memberikan dasar rasional untuk studi lanjutan yang lebih selektif dan efektif.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak etanol kulit batang *G. cowa* (GCBEE) secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan Doxorubicin (Dox) memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D?
2. Apakah GCBEE menunjukkan selektivitas yang lebih tinggi terhadap sel kanker T47D dibandingkan dengan sel normal Vero?
3. Bagaimana pengaruh kombinasi GCBEE dan Dox terhadap kemampuan migrasi sel kanker T47D dibandingkan dengan perlakuan tunggal?
4. Apakah perlakuan GCBEE dan kombinasinya dengan Dox mampu menginduksi apoptosis sel T47D secara signifikan berdasarkan metode *double staining* AO/PI dan *flow cytometry* Annexin V-FITC/PI?
5. Bagaimana pengaruh perlakuan GCBEE secara tunggal dan kombinasi dengan Dox terhadap distribusi siklus sel kanker T47D serta ekspresi regulator siklus sel (*cyclin D₁* dan *cyclin E*)?
6. Apakah GCBEE secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan Dox dapat meningkatkan ekspresi protein p53 pada sel kanker T47D?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan aktivitas sitotoksik GCBEE secara tunggal dan dalam kombinasi dengan Dox terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Mengkaji selektivitas GCBEE terhadap sel kanker T47D dibandingkan sel normal Vero.
3. Menganalisis kemampuan kombinasi GCBEE dan Dox dalam menghambat migrasi sel kanker T47D.
4. Membuktikan kemampuan GCBEE dan kombinasinya dengan Dox dalam menginduksi apoptosis pada sel T47D melalui metode *double staining* AO/PI dan *flow cytometry* Annexin V-FITC/PI.
5. Mengkaji pengaruh GCBEE dan kombinasinya terhadap distribusi siklus sel serta ekspresi protein *cyclin* D₁ dan *cyclin* E pada sel T47D.
6. Menganalisis ekspresi protein p53 sebagai indikator aktivasi jalur apoptosis pada sel T47D setelah perlakuan GCBEE dan kombinasinya dengan Dox.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Penelitian ini memperkaya pemahaman ilmiah tentang aktivitas antikanker bahan alam, khususnya *G. cowa*, serta mekanisme molekuler yang melibatkan apoptosis, migrasi sel, siklus sel, dan ekspresi protein regulator (*cyclin* D₁, *cyclin* E, dan p53).

2. Manfaat bagi praktisi

Hasil penelitian ini berpotensi dimanfaatkan dalam pengembangan fitofarmaka sebagai agen antikanker alternatif atau pendamping kemoterapi,

serta menjadi rujukan bagi industri farmasi dalam merancang terapi berbasis bahan alam yang lebih aman dan selektif.

3. Pembuat kebijakan

Penelitian ini dapat memberikan masukan ilmiah bagi pembuat kebijakan dalam mendukung pengembangan dan pemanfaatan obat herbal nasional, serta mendorong inovasi pemanfaatan tanaman lokal sebagai sumber bioaktif untuk terapi kanker.

