

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara pengekspor utama gambir, dengan produksi terbesar berasal dari Provinsi Sumatera Barat, khususnya Kabupaten Pesisir Selatan dan Kabupaten Lima Puluh Kota. Penggunaan gambir di wilayah tersebut masih dilestarikan secara turun-temurun sebagai bagian dari kearifan lokal masyarakat. Salah satu bentuk kearifan lokal tersebut adalah pemanfaatan tanaman obat tradisional dalam kehidupan sehari-hari (1). Tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) merupakan contoh nyata kekayaan hayati Indonesia yang memiliki nilai ekonomi dan farmakologis penting. Tanaman ini termasuk spesies endemik Asia Tenggara, terutama di Indonesia, dan telah lama dikenal karena beragam khasiatnya. Secara historis, gambir digunakan oleh masyarakat di Sumatera, Kalimantan, dan beberapa daerah lainnya sebagai obat tradisional serta bahan dalam tradisi menyirih (2).

Salah satu bahan alam yang memiliki potensi besar untuk dikembangkan adalah gambier liquid by-product (GLB), yaitu limbah cair hasil samping pengolahan tanaman gambir (*Uncaria gambir* Roxb.), komoditas utama Provinsi Sumatera Barat. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS, 2023), produksi gambir pada tahun 2022 mencapai 28.837 ton, dengan jumlah limbah cair sekitar 4% dari total berat produk gambir (3). Dengan demikian, diperkirakan terdapat lebih dari 1.000 liter GLB yang belum dimanfaatkan secara optimal setiap tahunnya.

Secara umum, pengolahan gambir saat ini masih dilakukan secara tradisional melalui tahapan perebusan, pengempaan, pengendapan, pencetakan getah, dan pengeringan. Selama ini, GLB hanya dimanfaatkan secara terbatas sebagai pewarna tekstil atau bahkan dibuang langsung ke lingkungan, sehingga nilai ekonominya rendah. Belum terdapat upaya sistematis untuk mengeksplorasi dan memanfaatkan kandungan bioaktif yang terdapat di dalamnya. Untuk

memperoleh fraksi bioaktif dari limbah cair gambir (GLB), digunakan teknik *Freeze drying* (FD) dan fraksinasi menggunakan resin Amberlite XAD-4 (AMB) (4). Hasil dari *Freeze drying* diberi kode E-FD, sedangkan hasil fraksinasi resin Amberlite diberi kode E-AMB. Proses FD dipilih karena mampu menghilangkan air pada suhu rendah melalui sublimasi, sehingga struktur kimia dan aktivitas senyawa bioaktif seperti katekin tetap terjaga (5). Sementara itu, teknik AMB berfungsi memurnikan dan mengkonsentrasikan polifenol melalui mekanisme adsorpsi-desorpsi, menghasilkan ekstrak yang lebih murni dan stabil (4)

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya kadar katekin dalam gambir mencapai 52,25%, sedangkan tanin sekitar 26%. Kedua kelompok senyawa tersebut dikenal memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba yang kuat (6). Senyawa katekin termasuk dalam kelompok flavonoid yang berperan sebagai antioksidan aktif dan memiliki potensi sebagai agen antikanker. Menurut penelitian Rita R, katekin gambir memiliki potensi yaitu menurunkan glukagon dan meningkatkan insulin pada model tikus diabetes (7), serta dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami tekstil. Selain itu, senyawa flavonoid seperti katekin juga diketahui memiliki potensi sebagai antikanker. Sejalan dengan hal tersebut, penelitian oleh Hariadi Yuseran dkk. menunjukkan bahwa pendekatan *in silico* melalui *molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi interaksi senyawa bioaktif terhadap protein yang berperan dalam apoptosis (8). Beberapa studi juga melaporkan bahwa katekin mampu menginduksi apoptosis melalui aktivasi enzim caspase serta modulasi ekspresi protein pengatur siklus sel (9). Penelitian Rahmaddiansyah menunjukkan bahwa katekin gambir pada uji sel kanker serviks menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 22,91 g/ml, senyawa katekin dapat menghambat pertumbuhan dan regulasi sel kanker serviks (lini sel HeLa) (10). Katekin diketahui mampu menetralkan aktivitas prokarsinogen dan memodulasi pembentukan radikal bebas pada fase inisiasi. Afinitasnya yang tergolong tinggi memudahkan molekul katekin untuk memasuki inti sel kanker (11).

Kanker serviks merupakan salah satu penyebab utama kematian pada perempuan di negara berkembang, termasuk Indonesia. Berdasarkan data World Health Organization (WHO, 2024), tercatat sebanyak 660.000 kasus baru kanker serviks dengan 350.000 kematian, di mana sekitar 80% di antaranya terjadi di

negara berkembang termasuk Indonesia (12). Menurut Globocan (2021), di Indonesia terdapat 36.633 kasus baru kanker serviks, dengan angka kematian yang terus meningkat, menjadikannya salah satu penyakit dengan beban kesehatan dan ekonomi terbesar. Secara global, angka kejadian kanker serviks diperkirakan akan meningkat hampir 50% pada tahun 2030. Pasien dengan stadium awal umumnya memiliki prognosis yang lebih baik setelah pengobatan sistemik dibandingkan dengan pasien stadium lanjut. Namun, sebagian besar kasus baru didiagnosis pada tahap akhir karena sifat penyakit ini yang asimtomatik dan nonspesifik pada fase awal (13).

Kanker serviks disebabkan oleh infeksi Human Papillomavirus (HPV), terutama oleh ekspresi gen onkogen E6 dan E7 yang berperan dalam menghambat mekanisme kontrol pertumbuhan sel. Gen E6 berperan penting dalam mempertahankan kelangsungan hidup HPV melalui inaktivasi protein penekan tumor p53, yang pada akhirnya memfasilitasi replikasi virus dan gangguan siklus sel (14). Terapi kanker serviks dapat dilakukan melalui kemoterapi, radioterapi, dan pembedahan. Obat kemoterapi sintetik yang umum digunakan meliputi cisplatin, cytodrox, dan doxorubicin (15). Namun, penggunaan doxorubicin sering dikaitkan dengan efek samping berat seperti kardiomiopati dan gagal jantung kongestif, terutama pada penggunaan jangka panjang. Selain itu, munculnya resistensi obat juga menurunkan efektivitas pengobatan. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan kandidat antikanker baru dari bahan alam yang lebih aman dan efektif.

Penelitian oleh Hariadi Yuseran dkk. melaporkan bahwa pendekatan *in silico* menggunakan *molecular docking* mampu memprediksi interaksi senyawa genistein terhadap protein yang berperan dalam apoptosis dan proliferasi sel kanker, seperti estrogen receptor dan caspase-3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa genistein memiliki interaksi yang stabil terhadap ER β sehingga berpotensi memodulasi aktivitas apoptosis pada sel kanker (8).

Sejalan dengan penelitian tersebut, penelitian sebelumnya oleh Ismail dkk. melaporkan bahwa limbah cair (*gambier liquid by-product/GLB*) masih mengandung senyawa bioaktif yang bernilai farmakologis. Melalui analisis LC-MS/MS QTOF, penelitian tersebut berhasil mengidentifikasi sekitar 27 senyawa

metabolit sekunder yang seluruhnya termasuk golongan flavonoid, seperti gallocatechin, epigallocatechin, kuersetin, dan kaempferol beserta turunannya. Keberadaan senyawa flavonoid tersebut menunjukkan bahwa GLB berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat antikanker melalui pendekatan *in silico* terhadap protein target yang berperan dalam regulasi apoptosis dan proliferasi sel kanker (29).

Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas biologis, termasuk potensi antioksidan dan antikanker. Namun, penelitian tersebut masih terbatas pada identifikasi senyawa dan belum mengevaluasi aktivitas sitotoksik maupun mekanisme apoptosis GLB terhadap sel kanker secara *in vitro*.

Limbah cair yang dihasilkan selama proses pengepresan daun dan ranting gambir diduga mengandung katekin sebagai senyawa utama, namun jumlah pastinya belum dijelaskan secara rinci, demikian pula dengan komponen senyawa lainnya. Penelitian ini akan menggunakan LC-MS/MS untuk mengidentifikasi profil kimia GLB secara menyeluruh serta mengevaluasi potensi senyawa aktifnya terhadap kanker serviks. Hasil penelitian diharapkan dapat membuka peluang pengembangan terapi alternatif berbasis limbah alam lokal yang bernilai rendah namun memiliki potensi farmakologis tinggi, sekaligus menyediakan solusi pengobatan yang lebih terjangkau (16).

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapakah nilai IC_{50} E-FD dan E-AMB terhadap viabilitas sel kanker serviks (*HeLa Cell Line*)?
2. Apakah pengaruh E-FD dan E-AMB pada konsentrasi IC_{50} terhadap perubahan morfologi dan peningkatan apoptosis sel kanker serviks (*HeLa Cell Line*) berdasarkan uji fluoresensi AO/PI?
3. Apakah saja senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam E-FD dan E-AMB berdasarkan analisis LC-MS/MS?
4. Bagaimanakah afinitas interaksi katekin, epikatekin, dan Prosianidin terhadap protein $ER\alpha$, AKT1, dan caspase-3 melalui analisis *molecular docking*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menilai dan menganalisis nilai IC_{50} antara E-FD dan E-AMB terhadap viabilitas sel kanker serviks (*HeLa Cell Line*).
2. Menilai dan menganalisis efek E-FD dan E-AMB pada konsentrasi IC_{50} terhadap perubahan morfologi sel yang mengarah pada pro apoptosis pada sel kanker serviks (*HeLa Cell Line*).
3. Mengetahui dan menganalisis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam E-FD dan E-AMB berdasarkan analisis LC–MS/MS.
4. Menganalisis afinitas interaksi katekin, epikatekin, dan Prosianidin terhadap protein $ER\alpha$, AKT1, dan caspase-3 melalui analisis *molecular docking*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini dapat mengolah GLB menjadi komponen yang bernilai tinggi sebagai kandidat pengobatan menggunakan bahan alam yang ramah lingkungan dan minim efek samping.
2. Penelitian ini menyajikan dasar ilmiah mengenai potensi antikanker GLB melalui pendekatan kimia farmasi dan farmakologi kanker sebagai acuan penelitian lanjutan dan pengembangan sediaan farmasi.
3. Dapat menjadi nilai tambah dari kekayaan sumber daya alam lokal Sumatera Barat yang belum banyak dieksplorasi.
4. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi senyawa metabolit sekunder GLB sebagai kandidat antikanker berdasarkan analisis *molecular docking* terhadap protein target apoptosis.

1.5 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat perbedaan viabilitas sel kanker serviks (*HeLa Cell Line*) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan E-FD serta E-AMB.
2. E-FD dan E-AMB menyebabkan perubahan morfologi sel yang mengarah pada pro apoptosis pada sel kanker serviks (*HeLa Cell Line*).