

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan kanker yang paling banyak terjadi pada wanita dengan jumlah kasus sepertiga dari semua diagnosis kanker pada wanita (Ferlay *et al.*, 2015). Berdasarkan data *Global Cancer Observatory* 2020 yang dirilis oleh *World Health Organization* (WHO), kanker payudara menempati posisi tertinggi yaitu sebesar 11,7% (2,26 juta kasus), disusul oleh kanker paru-paru 11,4% (2,2 juta kasus), kanker kolorektal 10% (1,9 juta kasus), kanker prostat 7,3% (1,4 juta kasus), dan kanker perut 5,6% (1,08 juta kasus) (WHO, 2020). Kanker payudara biasanya diawali proses hiperproliferasi kelenjar dan kemudian berkembang menjadi tumor jinak atau *benign* setelah stimulasi berbagai faktor karsinogenik secara konstan (Sun *et al.*, 2017). Kanker payudara sebagian besar disebabkan oleh faktor lingkungan, gaya hidup, dan genetik. Berbagai faktor resiko seperti usia (lebih dari 50 tahun), riwayat keluarga, penyakit reproduksi, dan kontrasepsi oral dapat meningkatkan resiko kanker payudara (Laskar *et al.*, 2020).

Kanker payudara dapat diobati dengan beberapa terapi yang telah dikembangkan dan diaplikasikan, antara lain: operasi, kemoterapi (*neoadjuvant*), radioterapi. Akan tetapi terapi kanker konvensional ini masih memiliki bioavailabilitas yang buruk dan bersifat toksik (Landeros-Martínez *et al.*, 2016). Kemoterapi merupakan salah satu pengobatan kanker yang menggunakan agen sitotoksik untuk membunuh sel kanker maupun sel sehat, sehingga menyebabkan berbagai efek samping selama terapi atau setelah terapi. Saat ini dikembangkan penelitian untuk mengeksplorasi pengobatan herbal yang secara selektif menargetkan sel kanker (Laskar *et al.*, 2020). Berbagai metode yang telah diteliti, dikembangkan dan dipatenkan untuk memperbaiki absorpsi obat, salah satunya adalah penggunaan partikel nano sebagai penghantar obat (*drug delivery*).

Drug delivery merupakan salah satu teknologi pengiriman obat ke sel target yang diinginkan dengan menggunakan partikel nano yang saat ini terus dikembangkan (Rasool *et al.*, 2015). *Nanodiamond* (ND) merupakan salah satu sistem *drug delivery* nanopartikel berbasis karbon (Ansari *et al.*, 2016) yang memiliki biokompatibilitas dengan interaksi kimia permukaan yang tinggi dan mampu menembus sitoplasma sel. *Nanodiamond* yang difungsionalisasi maupun tidak dapat digunakan untuk aplikasi bioteknologi dan medis sebagai pembawa biomolekul (DNA, RNA, protein) dan obat ke dalam sel dan organisme hidup (Gismondi *et al.*, 2015). *Nanodiamond* dapat dimodifikasi dengan mengkonjugasikannya dengan obat, seperti doksorubisin dan metabolit tanaman (Gismondi *et al.*, 2015). Molekul obat dapat berikatan dengan permukaan ND melalui interaksi elektrostatis atau ikatan hidrogen antara obat dan gugus karboksil atau hidroksil pada ND (Landeros-Martínez *et al.*, 2016) yang dapat meningkatkan efek terapeutik kanker (Van der Laan *et al.*, 2018). Penelitian lain juga telah menguji penggunaan *nanodiamond* untuk membawa metabolit tanaman yaitu *quercetin* yang terbukti meningkatkan aktivitas antiproliferasi pada kultur sel HeLa (Gismondi *et al.*, 2015).

Sel kultur (*cell line*) merupakan sel yang dikembangkan dan ditumbuhkan pada media kultur secara *in vitro*. Sel kultur juga disebut *continuous cell line*. *Continuous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penanganannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003). Sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7) adalah salah satu model sel kanker payudara yang sering digunakan dalam penelitian. Sel ini merupakan sel kanker payudara yang berasal dari *pleural effusionbreast adenocarcinoma* seorang pasien wanita Kaukasian berumur 69 tahun, dengan golongan darah O. Sel ini mengekspresikan reseptor estrogen alfa (ER- α), dan memiliki sifat resisten terhadap *doxorubicin* (Zampieri, *et al.*, 2002).

Beberapa jenis metabolit tanaman lain yang telah diketahui memiliki aktivitas antikanker adalah *annonacin* dan *squamocin*. *Annonacin* termasuk dalam kelompok *acetogenin* paling melimpah yang dilaporkan pada daun dan buah

Annona muricata yang saat ini banyak dikembangkan untuk penggunaan terapeutik pada kanker (Spencetr dan Valerie, 2017). *Annonacin* menunjukkan efek toksiknya pada sel dengan menekan kompleks mitokondria I yang mengakibatkan represi *ubiquinone-linked NADH oxidase* yang merupakan ekspresi vital membran sel kanker dan menghentikan proliferasi sel (Roduan *et al.*, 2019). Kemudian *Squamocin* juga merupakan salah satu senyawa golongan acetogenin yang terdapat pada *Annona squamosa* yang menunjukkan aktivitas antikanker pada sel MCF-7. *Squamocin* yang diekstrak dari biji *Annona squamosa* juga menunjukkan toksisitas pada sel leukemia L1210, sel kanker kolon(HCT), sel kanker paru-paru (A549) dan kanker prostat PC-3 (Ma *et al.*, 2017). Ekstrak biji *A. squamosa* juga menunjukkan sitotoksitas terhadap sel kanker nasofaringeal (KB), sel kanker paru-paru (A-549), sel kanker payudara (MCF-7), sel leukemia (K-562) dan menghambat pertumbuhan sel kanker pada mencit yaitu *Dalton's lymphoma ascites* (DLA) dan *Ehrlich ascites carcinoma* (EAC) (Vikaset *et al.*, 2019).

Penelitian dalam onkologi molekuler menghasilkan terapi baru yang menargetkan molekul tertentu untuk mendorong pertumbuhan dan kelangsungan hidup tumor. *Epidermal growth factor receptor* (EGFR) merupakan salah satu target penting sebagai jalur onkogenik utama yang diidentifikasi sebagai target terapi antikanker (Masuda *et al.*, 2012). *Epidermal growth factor receptor* (EGFR) dapat mengaktifkan PKC α yang kemudian dapat mengaktifasi sinyal *downstream* seperti FOXC2, *Fra-1*, dan *AP-1* yang berperan dalam perkembangan kanker payudara (Carey *et al.*, 2010). *Activator Protein-1* (*AP-1*) merupakan salah satu faktor transkripsi yang mengatur berbagai macam proses seluler, termasuk proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis (Garces *et al.*, 2018). Pada tingkat sel, faktor transkripsi *c-JUN* mengatur proliferasi sel dengan mengaktifkan atau menghambat ekspresi komponen utama siklus sel. *c-JUN* berperan saat transkripsi, translasi dan regulasi pasca-translasi yang spesifik pada jenis sel, akan tetapi juga dapat mendorong pertumbuhan tumor (Brennan *et al.*, 2020). *Neurogenic locus notch homolog 4* (*NOTCH4*) melalui *AP-1* merupakan onkogen yang memainkan peran utama dalam perkembangan kanker payudara (Kontomanolis *et al.*, 2018). Sinyal *NOTCH* diidentifikasi sebagai modulator apoptosis yang memediasi

inaktivasi p53 melalui fosforilasi (Guo *et al.*, 2010). Pengetahuan tentang fungsi, ekspresi, jalur degradasi, interaksi protein, dan dinamika cara pengikatan ekspresi gen dapat membuka kemungkinan baru target terapeutik untuk pengobatan kanker (Lambert *et al.*, 2018).

Penelitian sebelumnya membuktikan *annonacin* dan *squamocin* dapat secara signifikan menurunkan regulasi ekspresi gen EGFR yang secara teratur diekspresikan secara berlebihan pada kanker payudara, sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Dai *et al.*, 2011). Studi *in vitro* juga menunjukkan bahwa *annonacin* sebagai senyawa terbesar yang terkandung dalam *Annona muricata* dan *A. squamosa* dapat menghambat kelangsungan hidup sel kanker payudara dengan menginduksi apoptosis pada sel MCF-7 (Ko *et al.*, 2011). Penelitian sebelumnya hanya menggunakan *annonacin* dan *squamocin* tanpa *carrier nanodiamond* sebagai agenterapi kanker payudara, selain itu belum pernah ada yang meneliti mengenai efek *annonacin* dan *squamocin* pada sel MCF-7 terhadap ekspresi mRNA dari *c-JUN* dan *NOTCH4*. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah penggunaan *nanodiamond* sebagai molekul penghantar *annonacin* dan *squamocin* berpengaruh terhadap ekspresi mRNA *c-JUN* dan *NOTCH4* pada kultur sel MCF-7 yang diawali dengan penentuan IC₅₀ (IC=*inhibition concentration*) *annonacin* dan *squamocin* dengan MTT (*microtetrazolium*) assay.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Berapa nilai IC_{50} pada *annonacin* dan *squamocin* berdasarkan metode MTT assay?
2. Apakah terdapat perbedaan pengaruh konjugasi *nanodiamond* sebagai *carrier* terhadap efektivitas pemberian *annonacin* pada konsentrasi mRNA c -*JUN* dan *NOTCH4* menggunakan kultur sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7)?
3. Apakah terdapat perbedaan pengaruh konjugasi *nanodiamond* sebagai *carrier* terhadap efektivitas pemberian *squamocin* pada konsentrasi mRNA c -*JUN* dan *NOTCH4* menggunakan kultur sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7)?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui nilai IC_{50} pada *annonacin* dan *squamocin* berdasarkan metode MTT assay.
2. Mengetahui perbedaan pengaruh konjugasi *nanodiamond* sebagai *carrier* terhadap efektivitas pemberian *annonacin* pada konsentrasi mRNA c -*JUN* dan *NOTCH4* menggunakan kultur sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7).
3. Mengetahui perbedaan pengaruh konjugasi *nanodiamond* sebagai *carrier* terhadap efektivitas pemberian *squamocin* pada konsentrasi mRNA c -*JUN* dan *NOTCH4* menggunakan kultur sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7).

1.4 Hipotesis Penelitian

1.4.1 Hipotesis Kerja

1. Jika konjugasi bahan aktif dengan *nanodiamond* dapat meningkatkan aktivitas antikanker, maka perlakuan *annonacin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* dapat menurunkan ekspresi mRNA dari *c-JUN* dan *NOTCH4* pada sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7).
2. Jika konjugasi bahan aktif dengan *nanodiamond* dapat meningkatkan aktivitas antikanker, maka perlakuan *squamocin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* dapat menurunkan ekspresi mRNA dari *c-JUN* dan *NOTCH4* pada sel *Michigan Cancer Foundation-7* (MCF-7).

1.4.2 Hipotesis Statistik

1. **H₀** : Pemberian *annonacin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* tidak berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *c-JUN*, dibandingkan dengan kelompok kontrol *annonacin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.
H₁ : Pemberian *annonacin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *c-JUN* dibandingkan dengan kelompok kontrol *annonacin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.
2. **H₀** : Pemberian *annonacin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* tidak berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *NOTCH4* dibandingkan dengan kelompok kontrol *annonacin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.
H₁ : Pemberian *annonacin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *NOTCH4* dibandingkan dengan kelompok kontrol *annonacin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.
3. **H₀** : Pemberian *squamocin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* tidak berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *c-JUN* dibandingkan dengan kelompok kontrol *squamocin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.

H₁ : Pemberian *squamocin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *c-JUN* dibandingkan dengan kelompok kontrol *squamocin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.

4. **H₀** : Pemberian *squamocin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* tidak berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *NOTCH4* dibandingkan dengan kelompok kontrol *squamocin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.

H₁ : Pemberian *squamocin* yang dikonjugasikan dengan *nanodiamond* berpengaruh menurunkan secara bermakna konsentrasi mRNA *NOTCH4* dibandingkan dengan kelompok kontrol *squamocin* yang tanpa dikonjugasikan dengan *nanodiamond*.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi untuk pengembangan ilmu pengetahuan tentang potensi penggunaan *nanodiamond* sebagai *carrier* senyawa *annonacin* dan *squamocin* dalam meningkatkan aktivitas antikanker menggunakan sel MCF-7.