

BAB I**PENDAHULUAN****1.1 Latar Belakang**

Terhitung hingga tahun 2020, kanker serviks telah menyerang 604.000 wanita di dunia dan 342.000 diantaranya meninggal dunia. Dari data tersebut, kanker serviks diurutkan pada posisi keempat sebagai jenis kanker yang paling banyak menyerang wanita (Sung et al., 2021). Kanker serviks disebabkan oleh beberapa faktor, salah satu yang paling sering ditemui yaitu adanya infeksi oleh *Human Papillomavirus* (HPV) (Y. Q. Wang et al., 2018). HPV merupakan virus tumor DNA dari keluarga Papillomaviridae yang terbagi menjadi dua kelompok yaitu *high risk* dan *low risk*. Tipe *high risk* merupakan tipe yang paling berperan dalam menimbulkan kanker serviks terutama HPV16 dan HPV18 sebab kedua tipe ini dapat menyebabkan karsinoma sel skuamosa sebesar 70% dan adenokarsinoma lebih dari 90% (Gupta & Mania-Pramanik, 2019).

Pengobatan kanker serviks ditentukan berdasarkan tingkat keparahan perkembangan sel kanker, ukuran tumor, dan kondisi fisik pasien. Terapi kanker serviks diantaranya operasi pengangkatan tumor, radioterapi, kemoterapi dan imunoterapi (Johnson et al., 2019). Kemoterapi dan radioterapi merupakan jenis terapi yang banyak digunakan dengan tujuan untuk membunuh sel kanker agar tidak terus berkembang dan menyebar pada sel normal lainnya. Agen kemoterapi untuk kanker serviks yang telah disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) diantaranya Cisplatin, Carboplatin, dan Paclitaxel (Johnson et al., 2019). Namun, pengobatan dengan kemoterapi dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan karena selain menyerang sel kanker juga menyerang sel normal. Efek samping tersebut diantaranya mual, muntah, mucositis oral, efek toksik pada saluran gastrointestinal, hepatotoksisitas, nefrotoksisitas, neurotoksisitas, dan kardiotoxiksisitas.

Saat ini telah banyak penelitian yang menggunakan *natural product* seperti senyawa fitokimia dalam pengobatan kanker. Hal ini di dukung oleh adanya studi klinis dan pre-klinis yang menunjukkan bahwa penggunaan *natural products* sebagai

agen kemoterapi dapat mengurangi efek samping yang tidak diinginkan (Q. Y. Zhang et al., 2018). Selain itu kelebihan *natural product* yaitu memiliki spektrum aktivitas biologis yang luas. *Natural products* dapat berupa ekstrak kasar, fraksi mengandung komponen bioaktif, maupun senyawa murni yang berasal dari herbal. Salah satu fitokimia yang telah banyak dikembangkan sebagai antikanker adalah (-)-*Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) yang dihasilkan dari daun *Camellia sinensis* (Granja et al., 2016). (-)-*Epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) merupakan salah satu jenis katekin yang terkandung dalam teh hijau dengan persentase terbesar yaitu melebihi 40% dari seluruh jenis katekin (Y. Q. Wang et al., 2018). EGCG dikenal memiliki aktivitas sebagai antioksidan kuat dan merupakan *free radical scavengers*. Pada kondisi pertumbuhan sel kanker yang sangat proliferasif, terjadi peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mempengaruhi stress oksidatif. Cincin fenol pada struktur EGCG berperan sebagai penangkap elektron dan radikal bebas yang dapat mengurangi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan stress oksidatif (Di Domenico et al., 2012). Selain itu, diketahui bahwa EGCG memiliki kemampuan dalam memodulasi proliferasi, diferensiasi, apoptosis, angiogenesis dan, metastasis sel kanker sehingga dapat dikatakan EGCG memiliki potensi besar dalam pencegahan dan terapi kanker serviks (Hussain, & Ashafaq, 2018).

Ditinjau dari sifat fisikokimianya, EGCG termasuk ke dalam *Biopharmaceutics Classification System* (BCS) kelas 3 yaitu memiliki kelarutan tinggi dan permeabilitas rendah (Hu et al., 2016). Hal ini dapat dilihat dari kelarutan EGCG dalam air sebesar 5mg/ml dan memiliki nilai log P sebesar 0,69 (Bartosikova & Necas, 2018; Jiang et al., 2021). Hasil studi menunjukkan bahwa EGCG stabil pada pH 2.0-5.5 (Krupkova et al., 2016). EGCG tidak stabil dalam kondisi basa maupun netral serta permeabilitasnya pada usus rendah sehingga bioavailabilitas pada saluran gastrointestinal juga rendah (Hu et al., 2016). Pemberian EGCG secara oral juga mengalami *first pass metabolism* di hati (Mir et al., 2019). Maka dari itu perlu adanya alternatif lain yang dapat meningkatkan bioavailabilitas EGCG agar efektivitasnya optimal, salah satunya dengan sediaan topikal dengan rute intravagina. Pada pengobatan kanker serviks melalui rute intravagina, obat diharapkan dapat langsung menuju target terapi yaitu serviks.

Pemberian sediaan topikal merupakan sistem penghantaran obat secara lokal baik melalui mata, rektal, vagina, dan kulit sebagai rutenya (Kaur et al., 2016). Sediaan topikal memiliki keuntungan dapat menghindari *first pass metabolism*, menghindari inkompatibilitas dalam saluran gastrointestinal, serta penghantaran obat langsung menuju target terapi (Sharadha et al., 2020). Kulit merupakan jalur utama masuknya senyawa aktif dalam sistem penghantaran obat secara topikal (Kaur et al., 2016). Dalam proses penetrasi obat pada kulit, berat molekul dan lipofilisitas merupakan faktor utama yang menentukan keberhasilan senyawa aktif berpenetrasi (Yoshino et al., 2014).

EGCG memiliki berat molekul sebesar 458 Dalton yang mana telah memenuhi persyaratan yaitu dibawah 500 Dalton untuk dapat berpenetrasi pada kulit (Bos & Meinardi, 2000; Shirai et al., 1994). Namun EGCG memiliki permeabilitas yang rendah sebab EGCG terikat kuat pada jaringan kulit sehingga sulit untuk berpenetrasi ke dalam kulit (Yoshino et al., 2014). Sediaan topikal setidaknya harus memiliki log P sebesar 2-3 agar dapat berpenetrasi pada kulit secara optimal (Benson & Watkinson, 2012). Ditinjau dari target terapinya yaitu sel kanker, umumnya sel kanker memiliki lipoprotein dalam jumlah besar yang dibutuhkan dalam proses pembelahan sel yang cepat (Bernard & Ajibade, 2012). Sediaan dengan sifat lipofilisitas yang sama baik pada kulit maupun target terapi dibutuhkan agar sediaan dapat berpenetrasi dengan baik pada kulit (Rosita, Meitasari, et al., 2019).

Dalam upaya untuk meningkatkan permeabilitas obat, pemberian *permeation enhancers*, *ion-pairing*, dan pengembangan sistem penghantaran nanoteknologi seperti nanopartikel merupakan cara efektif yang dapat dilakukan. Pendekatan berbasis nanopartikel dengan cara mengenkapsulasi molekul obat di dalam nanopartikel dapat meningkatkan profil permeabilitas obat (V. S. Dave et al., 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Rosita et al., 2019 log P EGCG dapat ditingkatkan menjadi 2,1 melalui pembentukan *reverse micelle* dengan menggunakan surfaktan Tween 80 dan Span 80 pada nilai HLB 6. *Reverse micelles* merupakan droplet mikroemulsi air dalam minyak berukuran 1-20 nm yang dibentuk oleh surfaktan (Kopanichuk et al., 2018; Law & Britton, 2012). *Reverse micelles* sebagai salah satu bentuk nanopartikel telah banyak dikembangkan untuk mencegah dan mengobati sel kanker dengan meminimalkan toksisitas pada sel yang normal

serta meningkatkan kelarutan dan stabilitas bahan aktif (Xue & Liang, 2012). Selain itu, sistem penghantaran obat dengan skala nano 1-100 nm dikatakan dapat terakumulasi tinggi di jaringan tumor akibat adanya efek EPR (*Enhance Permeability and Retention*) (Xue & Liang, 2012).

Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan, dimana pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa dengan ditingkatkannya log P EGCG dapat meningkatkan penetrasi EGCG secara kualitatif pada kulit tikus yang diberi label Rhodamin-B setelah 2 jam diaplikasikan (Rosita, Meitasari, et al., 2019). Dalam modifikasi EGCG dengan pembentukan *reverse micelles* ini, EGCG yang bersifat hidrofil akan terjebak di inti bagian dalam *reverse micelles* sedangkan bagian lipofilik dari surfaktan akan menghadap ke luar yaitu pada media yang lipofil. Peningkatan log P yang disertai dengan peningkatan penetrasi ini diharapkan mampu meningkatkan aktivitas EGCG sebagai antikanker serviks secara *in vivo*.

Dalam pengembangan sistem penghantaran obat, perlu dilakukan tinjauan mengenai keamanan komponen yang akan digunakan. Hasil penelitian Stratton *et al.* (2000) membuktikan bahwa pemberian EGCG secara topikal selama 30 hari pada kulit mencit hingga konsentrasi 10% (w/w) atau setara dengan 7,5mg/mencit tidak menimbulkan iritasi. Selain itu, penelitian lain juga membuktikan bahwa pemberian EGCG secara topikal dengan dosis 50 mg tiga kali seminggu selama 30 minggu tidak menimbulkan toksisitas pada kulit (Gensler et al., 1996). Tween 80 dan Span 80 merupakan surfaktan non-ionik yang sering digunakan dalam sediaan farmasi karena memiliki toksisitas yang rendah (Kopanichuk et al., 2018). *American College of Toxicology* (1984) menyatakan bahwa Tween 80 aman digunakan dalam sediaan topikal atau kosmetik. Hal ini didukung oleh penggunaan Tween 80 dengan konsentrasi 10% tidak menimbulkan iritasi dan perubahan histologi pada mencit. Selain itu, penggunaan Span 80 pada konsentrasi 100% menimbulkan iritasi seperti edema dan eritema pada kulit kelinci namun tidak terdeteksi adanya iritasi pada konsentrasi 10% dan 60%. Dengan adanya data tersebut maka penggunaan surfaktan Tween 80 dan Span 80 diharapkan tidak menimbulkan iritasi jika menggunakan rentang yang telah ditetapkan.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas EGCG dalam bentuk *reverse micelle* sebagai antikanker. Uji aktivitas dilakukan terhadap bayi mencit berusia 1-6 hari dengan induksi menggunakan Ethinyl Estradiol. Pemberian Estradiol pada anak mencit yang baru lahir diketahui dapat menimbulkan *atypical epithelial differentiation* atau pertumbuhan yang tidak normal pada jaringan serviks mencit (Forsberg, 1969). Hal ini karena tingginya kadar estrogen akan memicu penebalan jaringan epitel serviks yang selanjutnya disebut dengan lesi pre-kanker. Selain uji aktivitas, dilakukan uji keamanan pada mencit betina berusia 6-10 minggu ditinjau dari adanya perubahan morfologi jaringan setelah pemberian sediaan secara intravagina. Evaluasi kedua uji ini diamati melalui histopatologi jaringan serviks menggunakan mikroskop cahaya dengan pewarnaan Hematoxylin & Eosin.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah efektivitas antikanker serviks EGCG dalam bentuk *reverse micelle* dengan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 HLB 6 dibandingkan EGCG tanpa pembentukan *reverse micelle* ditinjau dari histopatologi jaringan serviks mencit yang diinduksi Ethinyl Estradiol?
2. Bagaimanakah keamanan EGCG dalam bentuk *reverse micelle* dengan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 HLB 6 yang digunakan secara lokal melalui rute intravaginal pada mencit ditinjau dari histopatologi jaringan serviks?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan pengaruh pembentukan *reverse micelle* EGCG dengan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 HLB 6 terhadap efektivitas antikanker serviks secara *in vivo* pada mencit yang diinduksi Ethinyl Estradiol dibandingkan EGCG tanpa pembentukan *reverse micelle*.
2. Menentukan keamanan EGCG dalam bentuk *reverse micelle* dengan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 HLB 6 yang digunakan secara lokal melalui rute intravaginal pada mencit.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan bukti ilmiah mengenai pengaruh pembentukan *reverse micelle* EGCG dengan kombinasi surfaktan Tween 80 dan Span 80 HLB 6 terhadap aktivitas dan keamanan antikanker serviks sehingga dapat dijadikan referensi pengembangan sistem penghantaran obat antikanker selanjutnya terutama dalam bentuk sediaan topikal.