

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Lesi pra-ganas rongga mulut merupakan lesi pada mukosa mulut yang dapat bertransformasi menjadi keganasan (Aluckal *et al.*, 2022). Prevalensi lesi pra-ganas terjadi antara 1,5% dan 4,5% dari populasi dunia. Populasi tertinggi ditemukan di Asia, Amerika Selatan, dan Karibia karena terdapat variasi geografis pada tingkat konsumsi tembakau dan alkohol yang berbeda (Kansara *et al.*, 2023). Gaya hidup seperti merokok, minum alkohol, mengunyah tembakau/areca nut berisiko menyebabkan lesi pra-ganas oral (Gupta *et al.*, 2014). Paparan zat karsinogenik dari rokok akan menghasilkan DMBA yang dapat menginduksi lesi pra-ganas (Castillo *et al.*, 2016). Serta penyebab lain yaitu kerusakan mukosa akibat inflamasi (periodontitis, sinusitis maksilaris), virus seperti hepatitis, *human papillomavirus* (HPV), dan rentan pada lansia. (Nobuharu, 2015). Lesi pra-ganas berpotensi menjadi kanker apabila terpapar karsinogen terus menerus.

Kanker merupakan hasil dari pertumbuhan sel yang tidak terkendali akibat perubahan ekspresi gen sehingga menyebabkan suatu keganasan dan dapat bermetastasis ke jaringan yang lain (Ruddon, 2007). Kanker disebabkan karena adanya faktor eksogen dan endogen. Eksogen merupakan faktor pencetus yang disebabkan dari luar seperti radiasi, senyawa kimia, karsinogen dan virus. Sedangkan endogen merupakan gen serta produk produk gen hormon dan enzim tertentu (Hahn, 2003). Dari data *Global Cancer Observatory* (Globocan) mencatat total kasus kanker di Indonesia pada 2020 mencapai 396.914 kasus dan total kematian sebesar 234.511 kasus, Sedangkan untuk insiden kanker rongga mulut ditemukan lebih dari 550.000 kasus dengan angka kematian 380.000 di seluruh dunia dengan usia rata-rata di bawah usia 40 tahun dan sering ditemukan pada pria dibandingkan wanita. Kanker mulut dapat terjadi pada seluruh

bagian dari rongga mulut bahkan sampai ke orofaring, lebih dari 90% kanker yang terjadi di rongga mulut timbul dari lapisan gingiva, mukosa, dan sel epitel skuamosa yang disebut *Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC) (Gracia *et al.*, 2017; Irmawati *et al.*, 2020; Morlandt, & Amm, 2020)

Insiden kanker rongga mulut yang paling sering terjadi, yaitu *oral squamous cell carcinoma* (OSCC). Pada binatang coba kejadian OSCC dapat diinduksi dengan bahan kimia seperti DMBA (*Dimetilbenz [a] antrasen*) dan benzopiren. Pada penelitian ini digunakan DMBA karena DMBA merupakan suatu hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) yang merupakan karsinogen yang diketahui, menyebabkan tumor di berbagai jaringan dan spesies hewan. Pada penelitian yang dilakukan Meiyanto *et al.* (2007) dengan dosis 20 mg/kgBB 1 kali seminggu sebanyak 10 kali induksi menghasilkan insidensi tumor sampai minggu ke-14 mencapai 100%. Hal ini membuktikan bahwa DMBA terbukti paten dan dapat menimbulkan efek karsinogen pada hewan coba,

Karsinogen yang bersifat radikal bebas dengan paparan terus menerus akan menyebabkan suatu keganasan yang diawali oleh ketidakseimbangan *reactive oxygen species* (ROS). Ketidakseimbangan ROS dan radikal bebas berperan dalam transformasi neoplastik. ROS dapat menyebabkan kerusakan protein, lipid, karbohidrat dan nukleotida. Radikal bebas juga dapat merusak membran sel melalui produksi lipid peroksida. Ketidakseimbangan produksi ROS dan kapasitas sel oksidan dapat membentuk stres oksidatif sehingga memicu karsinogenesis dalam sel melalui mutagenesis, sitotoksitas, dan perubahan ekspresi gen, produksi ROS yang berlebihan atau kurangnya sistem antioksidan juga dapat menyebabkan transformasi keganasan. *Superoxide dismutase* (SOD) merupakan suatu antioksidan intrasel yang berperan dalam melindungi sel terhadap gangguan oksidan, *oxidative stress*, yang dapat menyebabkan terjadinya suatu penyakit dan proses degenerasi seperti penuaan dan

karsinogenesis (Ames dan Shigenaga, 1993). Enzim antioksidan superoksida dismutase (SOD) dapat melindungi sel terhadap ROS atau kerusakan oksidatif yang diatur oleh aktivitas dari *Nuclear factor-erythroid-2 related factor 2* (Nrf2) (Gurudath *et al.*, 2012; Sadaksharam *et al.*, 2017).

Nrf-2 adalah anggota subfamili *cap 'n' collar* (CNC) dari *basic region leucine zipper* (bZip) yang memegang peran kunci dalam proses regulasi redoks selular. Nrf2 merupakan faktor transkripsi yang akan mengatur aktivitas antioksidan seperti *superoxide dismutase* dan enzim detoksifikasi. Pada kondisi fisiologis Nrf2 akan memicu *up-regulating* dari antioksidan endogen dan protein sitoprotektif untuk mencegah terjadinya kerusakan jaringan. Namun pada keadaan patologis akan menyebabkan terjadinya proses ketidakseimbangan antioksidan akibat karsinogenesis sehingga terjadinya kerusakan sel yang diawali oleh kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel sehingga menjadi tidak terkendali (Malhotra *et al.*, 2010; Qiang Ma, 2013; Layal, 2016; Morihito *et al.*, 2017). Kerusakan sel tingkat molekuler akan dikenali oleh *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang kemudian akan memberi sinyal kepada *receptor germ-line encoded*, yaitu TLRs dan NLRs yang akan memodulasi jalur signaling sehingga menyebabkan aktivasi NF- κ B pada nukleus yang kemudian akan memodulasi aktivitas makrofag sehingga menghasilkan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β , IL-6, TNF- α yang menyebabkan peradangan, sehingga akan meregulasi radikal bebas dalam tubuh yang sebagian besar dihasilkan oleh ROS, bila aktivitas ROS ini berlebihan maka akan menyebabkan stres oksidatif sehingga akan terjadi gangguan pertumbuhan sel (Iswara, 2015 dalam Lange *et al.*, 2001; Budi, 2020). NF- κ B yang terfosforilasi secara berlebihan akan menekan p53 sebagai tumor supresor/*suppressor oncogen*. p53 yang rendah menyebabkan *down-regulation* Bax dan *up-regulation* Bcl-2 sehingga jalur apoptosis terhambat (Aleman *et al.*, 2012; Ula, 2014).

Ketidakseimbangan antara proliferasi sel dan apoptosis dapat mempengaruhi perkembangan lesi praganas. Keseimbangan dinamis ini sangat penting untuk mempertahankan homeostasis dan stabilitas tubuh manusia pada tingkat sel (Li *et al.*, 2017). Apoptosis adalah program kematian sel yang berfungsi untuk menghilangkan sel-sel yang tidak berguna atau berbahaya dalam organisme multisel. Pada jalur apoptosis terdapat peranan caspase-3 dalam perubahan nuclear apoptosis dan dianggap sebagai caspase efektor. Aktivasi caspase-3 dipicu oleh depolarisasi membran mitokondria yang melepaskan *cytochrome-c* yang kemudian akan berikatan dengan Apaf-1 yang bertindak sebagai pembawa pesan sekunder yang penting untuk memicu kematian sel. Pada kondisi patologis jalur apoptosis akan terhambat sehingga menyebabkan terjadinya penurunan ekspresi caspase-3 yang akan membuat lesi pra-ganas bertransformasi menjadi ganas (Liu *et al.*, 1996 : Wildman, 2008 : Silva *et al.*, 2022).

Sampai saat ini perawatan kanker rongga mulut masih menggunakan cara konvensional seperti pembedahan, radioterapi, kemoterapi, dan terapi kombinasi (Kusumadewi, 2017). Perawatan utama dalam pengobatan kanker yaitu pembedahan dengan dikombinasikan dengan terapi radiasi dan kemoterapi serta rehabilitasi lebih lanjut dalam jangka panjang. (Wong *et al.*, 2018). Pada perawatan pembedahan akan meninggalkan bekas yang dapat mengganggu. Terapi radiasi pada pasien dengan kanker mulut dapat menyebabkan efek samping permanen seperti, xerostomia, karies servikal, telangiectasia kulit, atrofi mukosa mulut dan kulit, alopesia permanen, dan osteoradionecrosis (Kusumadewi, 2017). Untuk terapi kombinasi obat-obatan yang paling sering diberikan yaitu karotenoid, obat kemoterapi, agen anti inflamasi, dan antimikroba. Kekurangan dari pemberian obat-obatan jenis ini pasien biasa mengalami dermatitis, pruritus, perubahan warna kulit, sakit kepala, nyeri otot, trombosis kardiovaskuler, dan teratogenesis (Thomson, 2019). Oleh karena itu, diperlukan adanya

terapi yang meminimalkan efek samping dengan keberhasilan penyembuhan yang efektif dan efisien.

Pengembangan pengobatan medis saat ini cukup banyak yang memanfaatkan tanaman atau tumbuhan sebagai sumber obat. Indonesia merupakan negara mega biodiversitas dengan sumber daya alam yang melimpah sekitar 6.000 spesies tanaman telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai pencegahan dan pengobatan penyakit (Meiyanto, 2019). Pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum kuntze*) merupakan tumbuhan tropikal yang sering digunakan sebagai pengobatan herbal. Pisang ambon terdiri dari beberapa bagian yang memiliki kandungan dan khasiat yang berbeda-beda. Getah yang diekstrak dari batang pisang ambon diketahui mengandung *lectins*, *palmitic acid*, *leucocyanidin* yang diketahui memiliki efek analgesik, antiinflamasi, antibakteri, serta antioksidan (Budi *et al.*, 2022). Pada penelitian terdahulu dengan analisa GC-MS batang pisang ambon diperoleh senyawa aktif, yaitu *hexadecanoic acid* yang merupakan golongan asam palmitat yang memiliki peran antioksidan, hipokolesterolemik, nematisida, pestisida, penghambat hemolitik, antiandrogenik dan memiliki peranan dalam menekan pertumbuhan sel kanker melalui proses apoptosis. Oleh kaerena itu, penelitian ini dipilih batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum kuntze*) yang diperoleh dari lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Purwodadi, Pasuruwan, Jawa Timur sebagai kandidat obat alternatif penyembuhan transformasi keganasan pada tikus pasca pemberian DMBA (Krishnamoorthy & Subramaniam, 2014; Budi *et al.*, 2022).

Batang pisang ambon mengandung banyak zat aktif yang berkontribusi terhadap mekanisme apoptosis yang meningkatkan kemampuan tubuh dalam melawan radikal bebas penyebab lesi praganas. Berdasarkan studi Singh *et al.* (2016), *lectin*, *quercetin* dan *palmitic acid* yang terkandung dalam batang pisang ambon memiliki efek meningkatkan ekspresi caspase. Penelitian tersebut mengukur aktivasi caspase-8, 9 dan

3 melalui pemberian lectin pada sel kanker pankreas, dan menghasilkan bahwa terdapat peningkatan ekspresi caspase-9 dan caspase-3 sehingga meningkatkan kemampuan untuk melakukan apoptosis sel. Selain lectin, kandungan batang pisang ambon lainnya yang mempengaruhi ekspresi caspase adalah *hexadecanoid acid*. *hexadecanoid acid* sebagai turunan dari *palmitic acid* diketahui dapat mengaktifkan caspase-3 dan caspase-9 dengan melepaskan sitokrom C dan *poli-ADP-ribose polymerase* (PARP) (Niu *et al.*, 2011). Hal ini diperkuat oleh penelitian Budi *et al.* (2020) yang meneliti efek *hexadecanoid acid* terhadap mekanisme apoptosis dengan menginduksi caspase-3. Hasil dari penelitian Budi *et al.* (2020) didapatkan bahwa terdapat peningkatan konsentrasi caspase-3 setelah diberikan ekstrak batang pisang ambon. Pada penelitian sebelumnya didapatkan bahwa terdapat peningkatan konsentrasi p53 setelah diberikan ekstrak batang pisang ambon dengan *hexadecanoid acid* sebagai salah satu kandungannya. Mekanisme peningkatan ekspresi caspase-3 yaitu melalui regulasi p53, Bax dan Bcl-2. Pada penelitian tersebut didapatkan bahwa dosis efektif pada pemberian ekstrak batang pisang ambon, yaitu 4 mg/kgBB dan didapatkan peningkatan ekspresi p53 dan penurunan ekspresi Bcl-2 paling signifikan pada kelompok ini, sehingga pada penelitian ini akan dipilih dosis paling efektif yaitu 4 mg/kgBB yang diberikan selama 14 hari (Budi *et al.*, 2022). Hal ini sejalan dengan penelitian Tanessa *et al.* (2023) menggunakan sediaan nanoemulsi selama 14 hari dan dilakukan pengorbanan di hari ke-15.

Selain meningkatkan mekanisme apoptosis melalui caspase, kandungan batang pisang diketahui memiliki efek dalam ekspresi antioksidan eksogen, yaitu SOD dibuktikan melalui studi Bagheri *et al.* (2021), pada tikus percobaan yang menerima quercetin, dikatakan bahwa quercetin sebagai salah satu poligenol yang umum dengan sifat antiinflamasi dan antioksidan, memiliki efek meningkatkan *superoxide dismutase* (SOD) (Bagheri *et al.*, 2021). Metabolit sekunder seperti flavonoid, tannin, dan saponin

memiliki efek terhadap peningkatan SOD melalui aktivasi Nrf-2 sehingga kerusakan sel dapat dicegah melalui pemberian obat nanoemulsi peroral (Butarbutar *et al.*, 2016).

Pemberian obat secara oral adalah sistem pengaplikasian obat langsung melalui mulut dengan tujuan untuk mendapatkan efek sistemik, yaitu obat beredar melalui pembuluh darah ke seluruh tubuh. (Bhowmik *et al.*, 2009). Pada pemberian ekstrak peroral secara langsung dapat menimbulkan ketidaknyamanan dan memiliki ukuran partikel besar sehingga penetrasi dan absorpsinya kurang baik serta diperlukan dosis yang tinggi untuk mengoptimalkan efektivitas obat karena bentuk globul yang besar dari ekstrak sulit optimal untuk berpenetrasi ke jaringan (Lina *et al.*, 2017). Pendekatan teknologi berbasis nano dengan skala dibawah 200 nm memberikan keuntungan lebih dari pada metode konvensional (ekstrak) (Vinardell, 2015 ; Pratiwi *et al.*, 2018), seperti peningkatan daya penetrasi, stabilitas lebih baik, dan meningkatkan luas area permukaan. Nanoemulsi adalah sistem dispersi berupa emulsi yang dapat meningkatkan kelarutan obat yang sukar larut dalam air serta memiliki stabilitas jangka panjang dan kemampuan penetrasi yang baik (Ananda *et al.*, 2022). Secara termodinamika, nanoemulsi lebih stabil dibandingkan emulsi biasa (Pratiwi *et al.*, 2018). Dengan harapan struktur kecil dari globul nano dapat berpenetrasi ke dalam jaringan lebih baik untuk mengoptimalkan penyembuhan (Mangale, 2015).

Berdasarkan uraian di atas maka peneliti ingin membuktikan pengaruh nanoemulsi ekstrak batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) terhadap ekspresi Nrf-2 dan caspase-3 pada lesi pra-ganas tikus wistar yang diinduksi DMBA

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian nanoemulsi batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dapat meningkatkan ekspresi Nrf-2 dan Caspase-3 pada transformasi keganasan mukosa bukal tikus melalui jalur apoptosis?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa pemberian nanoemulsi batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dapat meningkatkan ekspresi Nrf-2 dan Caspase-3 pada transformasi keganasan mukosa bukal tikus melalui jalur apoptosis.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa nanoemulsi batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dapat meningkatkan ekspresi Nrf-2 pada transformasi keganasan mukosa bukal tikus melalui jalur apoptosis.
2. Membuktikan bahwa nanoemulsi batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dapat meningkatkan ekspresi Caspase-3 pada transformasi keganasan mukosa bukal tikus melalui jalur apoptosis.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi serta mendukung penelitian-penelitian selanjutnya mengenai manfaat nanoemulsi batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) sebagai obat antikanker melalui respon ekspresi Nrf2 dan Caspase-3 pada transformasi keganasan mukosa bukal tikus melalui jalur apoptosis.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil dari penelitian ini diharapkan nantinya nanoemulsi batang pisang ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum*) dapat dikembangkan sebagai kandidat antikanker rongga mulut.