

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kanker merupakan penyebab utama kematian di hampir setiap negara dan memiliki dampak yang signifikan terhadap harapan hidup (Sung *et al.*, 2021). Kanker payudara adalah masalah kesehatan utama di kalangan wanita karena tingkat mortalitas dan morbiditasnya yang tinggi dibandingkan dengan berbagai jenis kanker lainnya (Kashyap *et al.*, 2022). Sebanyak 2,3 juta wanita didiagnosis menderita kanker payudara di seluruh dunia pada tahun 2020, dengan sekitar 685.000 wanita meninggal akibat penyakit ini (Arnold *et al.*, 2022). Hampir setengah (45,4%) dari 2,3 juta kanker payudara yang didiagnosis berasal dari Asia (Lim *et al.*, 2022). Salah satu kanker yang paling banyak diderita di Indonesia adalah kanker payudara, yaitu sebesar 19,2% dari semua kasus kanker (Gautama, 2022). Angka kejadian dan tingkat kematian kanker payudara yang distandarisasi berdasarkan usia adalah 44 dan 15,3 per 100.000 penduduk (Prabandari *et al.*, 2022). Menurut American Cancer Society, pada tahun 2023, diperkirakan akan ada 297.790 kasus baru kanker payudara invasif yang didiagnosis pada wanita, 2.800 kasus baru yang didiagnosis pada pria, dan 55.720 kasus baru *ductal carcinoma in situ* (DCIS) yang didiagnosis pada wanita (Siegel *et al.*, 2023).

Kanker payudara umumnya bermula dari hiperproliferasi di saluran duktal, kemudian berkembang menjadi tumor jinak atau karsinoma metastatik setelah terus-menerus terpapar oleh berbagai faktor karsinogenik (Sun *et al.*, 2017). Proses ini melibatkan beberapa perubahan molekuler pada sel prekursor dan sel neoplastik, termasuk perubahan genetik dan epigenetik (Rivenbark *et al.*, 2013). Berbagai faktor risiko, termasuk jenis kelamin, penuaan, paparan estrogen, riwayat keluarga, nutrisi, terapi radiasi pada dada (Ataollahi *et al.*, 2015), perubahan genetik, obesitas (Cohen *et al.*, 2023), dan gaya hidup yang tidak sehat, seperti mengonsumsi alkohol, merokok, dan kurangnya aktivitas fisik (Łukasiewicz *et al.*, 2021), dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker payudara (Sun *et al.*, 2017). Efek dari faktor risiko tersebut sering kali muncul melalui stres oksidatif (Nourazarian *et al.*, 2014). Stres oksidatif mengacu pada peningkatan tingkat *reactive oxygen species* (ROS)

yang dapat menyebabkan kerusakan pada lipid, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Schieber & Chandel, 2014). Adanya kerusakan DNA tersebut menginduksi mekanisme respons terhadap kerusakan DNA yang menyebabkan penghentian siklus sel apoptosis dan penekanan tumor (Sp *et al.*, 2021).

Dalam mekanisme respons terhadap kerusakan DNA, aktivasi *nuclear factor kappa B* (*NFKB*) dan caspase 3 (*CASP3*) memainkan peran kunci dalam mengatur jalur apoptotik dan mengontrol pertumbuhan sel. *NFKB* diaktivasi sebagai respons terhadap kerusakan DNA dan berperan dalam mengatur jalur kelangsungan hidup sel (Janssens & Tschopp, 2006). *NFKB* diketahui memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel, inflamasi, dan kekebalan (Shostak & Chariot, 2011). Disregulasi *NFKB* dapat menyebabkan perkembangan tumor dengan cara menghambat apoptosis, membentuk jaringan yang mengatur siklus sel, dan mendorong invasi sel, inflamasi, tumorigenesis, metastasis, dan akhirnya menyebabkan resistensi terhadap radioterapi dan kemoterapi. Oleh karena itu, *NFKB* yang teraktivasi terdeteksi pada kanker payudara (Pavitra *et al.*, 2023). Sementara itu, *CASP3* memainkan peran kunci sebagai mediator utama dalam jalur apoptosis yang terletak di ujung kaskade caspase (O'Donovan *et al.*, 2003; Dou *et al.*, 2023). *CASP3* merupakan caspase efektor utama yang berperan dalam membelah sejumlah besar substrat seluler selama proses apoptosis. Aktivasi *CASP3* terjadi setelah pembelahan oleh caspase 8 atau caspase 9 yang termasuk caspase hulu (Kumar, 2007). Setelah diaktivasi oleh caspase hulu, *CASP3* mampu membelah berbagai substrat, termasuk *poly (ADP-ribose) polymerase 1* (PARP1), faktor fragmentasi DNA, *protein kinase C theta* (PKC $\theta$ ), dan lainnya. Pemecahan berbagai substrat ini berkontribusi pada ciri-ciri morfologis dan biokimia khas yang diamati dalam apoptosis. Adanya keberagaman substrat tersebut, *CASP3* dianggap sebagai mediator umum apoptosis baik yang terjadi secara fisiologis maupun yang diinduksi oleh stres (Mandlekar *et al.*, 2000). Dengan demikian, pada kanker payudara, pengaturan yang tepat terhadap aktivasi *NFKB* dan *CASP3* menjadi krusial dalam pengembangan strategi terapi.

Berbagai metode telah dikembangkan untuk terapi kanker payudara, seperti pembedahan, kemoterapi, radioterapi, dan terapi bertarget (Raheem *et al.*, 2023). Beberapa pengobatan memiliki masalah yang menghambat efektivitas pengobatan

klinis, termasuk metastasis, resistensi obat, toksisitas, efek samping yang tidak diinginkan, dan terjadinya kekambuhan kanker karena sel-sel ganas yang bertahan dan adanya sel punca kanker (Herdiana *et al.*, 2022). Efek samping yang paling sering terjadi adalah neuropati, penekanan sumsum tulang, gangguan pencernaan dan kulit, rambut rontok, dan kelelahan (Gavas *et al.*, 2021). Salah satu contohnya adalah pengobatan melalui kemoterapi yang dapat memicu rontoknya rambut akibat dari diproduksinya stres oksidatif (Zhang & Jimenez, 2023) dan dapat merusak sel, organ, dan jaringan yang sehat (Debela *et al.*, 2021). Oleh karena itu, pengobatan yang efektif untuk terapi kanker payudara yang tidak menimbulkan efek samping pada sel dan organ normal perlu ditemukan.

Dalam beberapa tahun terakhir, minat terhadap penggunaan obat herbal untuk pengobatan kanker meningkat karena banyak ekstrak tanaman telah diketahui mengandung senyawa dengan sifat antikanker (Rochaniawan, 2021). Salah satu tanaman tersebut adalah jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) yang sering digunakan oleh banyak pasien untuk mengatasi berbagai kondisi kesehatan (Supu *et al.*, 2018). Jahe merah memiliki kandungan total fenolik dan flavonoid, minyak atsiri, serta konsentrasi vanilloid yang lebih tinggi dibandingkan dengan jenis jahe lainnya (Ghasemzadeh *et al.*, 2010; Supu *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2022). Senyawa bioaktif utama dalam jahe merah adalah vanilloid yang mengandung gugus 3-metoksi-4-hidroksifenil (vanilil) (Semwal *et al.*, 2015). Berdasarkan kimiawi rantai samping pada vanilloid terbagi menjadi berbagai senyawa, seperti gingerol, shogaol, paradol, zingerol, gingerdiones, gingerdiol, dan sebagainya (Zhang *et al.*, 2022). Senyawa bioaktif tersebut memiliki potensi sebagai sifat antikanker (Prasetyo *et al.*, 2019).

Salah satu komponen ekstrak rimpang jahe merah, 6-Gingerol, memiliki aktivitas anti-inflamasi, antikanker, dan efek antioksidan (Liu *et al.*, 2022). 6-gingerol telah terbukti memiliki efek antikanker pada berbagai jenis kanker, seperti kanker prostat (Liu *et al.*, 2022) dan kanker usus besar (Radhakrishnan *et al.*, 2014). Ekstrak jahe merah juga berpotensi memiliki efek antikanker dan anti-inflamasi pada kanker payudara karena adanya senyawa bioaktif tersebut. Hal tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mohammed (2021). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa gingerol memiliki efek sitotoksik terhadap sel MCF-

7 melalui uji 3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT). Setelah diinkubasi selama 24 jam, gingerol dengan konsentrasi 100 µg/ml menunjukkan tingkat penghambatan sebesar 83,2 persen terhadap proliferasi sel MCF-7. Sel MCF-7 yang diberi perlakuan dengan gingerol juga menunjukkan peningkatan signifikan dalam apoptosis dengan ekspresi gen caspase 3, caspase 8, dan caspase 9 yang lebih tinggi dibandingkan dengan sel yang tidak diberi perlakuan. Penelitian Kim *et al.* (2015) juga membuktikan 6-gingerol dapat menginduksi ekspresi gen *CASP3* yang menyebabkan penghentian siklus sel dan apoptosis pada sel MCF-7. Penelitian Yücel *et al.* (2022) melaporkan bahwa gingerol memiliki aktivitas anti-inflamasi, yaitu gingerol dapat meredakan inflamasi karena kemampuannya untuk menghambat aktivasi protein kinase B (Akt) dan jalur pensinyalan *NFKB*, yang menyebabkan penurunan proinflamasi dan peningkatan sitokin anti-inflamasi. Penelitian Ling *et al.* (2010) juga melaporkan bahwa 6-shogaol, yang juga terkandung dalam jahe merah, mampu menurunkan aktivitas transkripsi *NFKB* yang dapat menghambat invasi sel kanker payudara. Namun, penerapan klinis obat herbal, seperti ekstrak tumbuhan, sangat terbatas oleh rendahnya kelarutan dan permeabilitas membran, waktu paruh yang pendek, dan ketersediaan hayati yang tidak memadai (Guo *et al.*, 2023). Salah satu inovasi untuk mengatasi hal tersebut adalah pengembangan obat herbal dalam bentuk nanokristal.

Saat ini penerapan nanoteknologi telah berhasil meningkatkan efektivitas dan kualitas terapi untuk berbagai jenis kanker payudara, termasuk kanker payudara invasif, non-invasif, dan *triple negative breast cancer* (TNBC), dan sebagainya (Kumar *et al.*, 2023). Pemanfaatan obat herbal dalam bentuk nanokristal telah menunjukkan potensi dalam meningkatkan kelarutan dan ketersediaan hayati dengan cara mengurangi ukuran partikel, meningkatkan luas permukaan spesifik, dan memodifikasi mekanisme penyerapan (Guo *et al.*, 2023). Nanokristal dapat melepaskan obat secara bertahap dan terkendali, menembus jaringan dengan baik, masuk ke dalam sel kanker dengan efisien, dan mengirimkan obat ke bagian sel yang tepat, sehingga dapat meningkatkan efektivitas penanganan kanker (Yenurkar *et al.*, 2023). Oleh karena itu, pemanfaatan ekstrak rimpang jahe merah yang diformulasikan dalam bentuk nanokristal diduga memiliki keunggulan yang dapat meningkatkan efek antikanker. Hal tersebut didukung oleh penelitian Manatunga *et*

al. (2018), bahwa penggabungan 6-gingerol ke dalam sistem pembawa nano (*nanocarrier systems*) dapat memperkuat potensi antikankernya. Oleh karena itu, diperlukan pengujian secara *in vitro* karena penelitian mengenai nanokristal jahe merah (NKJM) ini masih sedikit dilakukan. Pengujian ini dilakukan menggunakan *Michigan Cancer Foundation-7 (MCF-7) cell lines*. Sel MCF-7 merupakan model *in vitro* yang berguna untuk mempelajari kanker payudara yang responsif terhadap estrogen (Vickers *et al.*, 1988; Vantangoli *et al.*, 2015), sehingga relevan untuk menggambarkan respons sel kanker payudara yang diobati dengan NKJM. Berdasarkan uraian tersebut, telah dilakukan penelitian untuk mengungkap pengaruh NKJM terhadap sitotoksitas serta ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada sel MCF-7.

### 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Bagaimana pengaruh NKJM (*Z. officinale* var. *Rubrum*) terhadap sitotoksitas serta ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada lini sel MCF-7?”.

### 1.3. Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, dapat disusun pertanyaan penelitian sebagai berikut.

1. Bagaimana pengaruh NKJM terhadap sitotoksitas MCF-7?
2. Bagaimana pengaruh NKJM terhadap ekspresi gen *NFKB* pada sel MCF-7?
3. Bagaimana pengaruh NKJM terhadap ekspresi gen *CASP3* pada sel MCF-7?
4. Bagaimana hubungan antara ekspresi gen *NFKB* dengan *CASP3* pada sel MCF-7 yang diberi NKJM?

### 1.4. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap pengaruh NKJM (*Z. officinale* var. *Rubrum*) terhadap sitotoksitas serta ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada lini sel MCF-7. Tujuan khusus dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Mengetahui pengaruh NKJM terhadap sitotoksitas MCF-7.
2. Mengetahui pengaruh NKJM terhadap ekspresi gen *NFKB* pada sel MCF-7.
3. Mengetahui pengaruh NKJM terhadap ekspresi gen *CASP3* pada sel MCF-7.
4. Mengetahui hubungan antara ekspresi gen *NFKB* dengan *CASP3* pada sel MCF-7 yang diberi NKJM.

### 1.5. Batasan Penelitian

Agar dapat fokus pada tujuan penelitian, maka ruang lingkup penelitian ini dibatasi pada beberapa hal-hal berikut.

1. Nanokristal Jahe Merah (*Z. officinale* var. *Rubrum*) diperoleh dari PT Nanotech Natura Indonesia, Banten, Indonesia, yang telah terkarakterisasi sebagai nanokristal melalui uji *zeta potential analyzer* (ZPA) dan *scanning electron microscopy* (SEM).
2. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah sitotoksitas serta ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3*.
3. Metode yang digunakan dalam uji sitotoksitas adalah *water-soluble tetrazolium 8* (WST-8), sedangkan metode yang digunakan dalam analisis ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* adalah *reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction* (RT-qPCR).

### 1.6. Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, manfaat dari penelitian ini di antaranya adalah sebagai berikut.

#### 1. Manfaat Teoritis

Secara teoritis, penelitian ini dapat meningkatkan pemahaman ilmiah dan memperkaya pengetahuan ilmiah mengenai pengaruh NKJM terhadap sitotoksitas serta ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada lini sel MCF-7.

#### 2. Manfaat Praktis

Secara praktis, penelitian ini dapat berkontribusi untuk pengembangan terapi kanker payudara baru dan membuka peluang untuk pengembangan formulasi obat berbasis jahe merah. Selain itu, penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan dalam melakukan uji *in vivo* sebagai tahapan selanjutnya untuk memperluas cakupan pemahaman terhadap potensi aplikasi NKJM dalam pengembangan terapi kanker payudara.

### 1.7. Asumsi

Berikut merupakan asumsi yang dijadikan landasan penelitian ini.

1. Jahe merah memiliki senyawa bioaktif, termasuk flavonoid, gingerol, dan shogaol, yang menunjukkan sifat antikanker (Prasetyo *et al.*, 2019).
2. Gingerol memiliki efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Mohammed, 2021).

3. 6-gingerol dapat menginduksi ekspresi gen *CASP3* yang menyebabkan penghentian siklus sel dan apoptosis pada sel MCF-7 (Kim *et al.*, 2015).
4. Gingerol dapat meredakan inflamasi karena kemampuannya untuk menghambat aktivasi protein kinase B (Akt) dan jalur pensinyalan *NFKB*, yang menyebabkan penurunan proinflamasi dan peningkatan sitokin anti-inflamasi (Yücel *et al.*, 2022). Selain itu, 6-shogaol menurunkan aktivitas transkripsi *NFKB* yang dapat menghambat invasi sel kanker payudara (Ling *et al.*, 2010).
5. Efek anti-kanker dari 6-gingerol meningkat ketika diinkorporasikan ke dalam sistem *nanocarrier* (Manatunga *et al.*, 2018).

### 1.8. Hipotesis

Berikut merupakan hipotesis dari penelitian ini.

1. NKJM memberikan efek toksik terhadap sel MCF-7.
2. NKJM menurunkan ekspresi gen *NFKB* pada sel MCF-7.
3. NKJM meningkatkan ekspresi gen *CASP3* pada sel MCF-7.
4. Ekspresi gen *NFKB* berbanding terbalik dengan ekspresi gen *CASP3* pada sel MCF-7 yang diberi NKJM.

### 1.9. Struktur Organisasi Skripsi

Isi utama dalam penyusunan skripsi ini mengacu pada Pedoman Penulisan Karya Tulis Ilmiah UPI Tahun 2019 yang terdiri dari lima bab utama. Adapun struktur organisasi dari skripsi ini adalah sebagai berikut.

#### 1. Bab I Pendahuluan

Bab I memaparkan fenomena yang menjadi latar belakang penelitian, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan penelitian, batasan penelitian, manfaat penelitian, asumsi penelitian, hipotesis penelitian, dan struktur organisasi skripsi mengenai pengaruh NKJM (*Z. officinale* var. *Rubrum*) terhadap sitotoksitas serta ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada lini sel MCF-7.

#### 2. Bab II Kajian Pustaka

Bab II menguraikan berbagai teori, konsep, dan hasil penelitian terdahulu yang relevan dengan topik penelitian. Bab ini mencakup penjelasan mengenai tanaman jahe merah (*Z. officinale* var. *Rubrum*), kandungan fitokimia, dan potensinya, ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada kanker payudara, kanker

payudara dan macam-macam terapinya, nanokristal dan potensinya sebagai antikanker, serta sel MCF-7.

### 3. Bab III Metode Penelitian

Bab III menjelaskan metode penelitian yang digunakan untuk menjawab pertanyaan penelitian dan mencapai tujuan penelitian. Bab ini mencakup jenis penelitian, desain penelitian, waktu dan lokasi penelitian, populasi dan sampel penelitian, prosedur penelitian, analisis data, dan alur penelitian. Prosedur penelitian meliputi persiapan alat dan bahan, kultur dan subkultur sel MCF-7, persiapan nanokristal jahe merah, pengujian sitotoksitas menggunakan metode WST-8, dan analisis ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* dengan metode RT-qPCR.

### 4. Bab IV Temuan dan Pembahasan

Bab IV menyajikan temuan penelitian yang telah dianalisis dan diinterpretasikan secara detail. Temuan tersebut kemudian dibahas dan dikaitkan dengan penelitian sebelumnya. Temuan tersebut meliputi morfologi sel MCF-7 yang telah diberi perlakuan NKJM, hasil analisis statistik uji sitotoksitas yang berupa nilai viabilitas, inhibisi, dan  $IC_{50}$ , serta hasil analisis statistik ekspresi gen *NFKB* dan *CASP3* pada lini sel MCF-7 dan hubungan antara kedua ekspresi gen tersebut.

### 5. Bab V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi

Bab V berisi simpulan dari keseluruhan penelitian yang menanggapi pertanyaan penelitian, membahas implikasi temuan untuk penelitian selanjutnya, serta memberikan rekomendasi berdasarkan hasil penelitian.