

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi sel kanker (Djajanegara dan Wahyudi, 2009). Penyakit ini memiliki ciri-ciri adanya gangguan atau kegagalan mekanisme pengaturan multiplikasi pada organisme multiseluler sehingga terjadi perubahan perilaku sel yang tidak terkontrol. Perubahan tersebut disebabkan karena transformasi genetik, terutama pada gen-gen yang mengatur pertumbuhan, yaitu protoonkogen dan gen penekan tumor (Achmad dkk., 2011). Dalam pertumbuhannya, sel kanker membutuhkan nutrisi dan oksigen melalui pembuluh darah untuk tumbuh dan berkembang sehingga sel – sel kanker mengeluarkan zat pertumbuhan untuk merangsang pembentukan pembuluh darah baru yang disebut angiogenesis (Matter, 20z01).

Kanker merupakan penyebab kematian nomor 2 setelah penyakit kardiovaskular. Di dunia, sebanyak 12% kematian disebabkan oleh kanker (Chilmy dkk., 2012). Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) tahun 2013, insiden kanker meningkat dari 12,7 juta kasus tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus tahun 2012, dengan jumlah kematian meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Di Indonesia kanker leher rahim dan kanker payudara merupakan dua jenis kanker dengan kasus tertinggi (Kemenkes, 2013). Di Indonesia, prevalensi kanker tertinggi terdapat di daerah DI Yogyakarta (4,1‰), diikuti Jawa Tengah (2,1‰), Bali (2‰) (Riskerdas, 2013).

Beberapa upaya dilakukan untuk mengatasi meningkatnya kejadian kanker, seperti pemusnahan sel kanker melalui operasi, radioterapi, dan kemoterapi. Menyadari bahwa metode – metode tersebut memiliki tingkat efisiensi yang rendah dan angka toksisitas yang tinggi terhadap sel non-kanker, maka dilakukan pengembangan terapi gen yang mampu meningkatkan efisiensi terapi, sekaligus dapat mengurangi tingkat toksisitas terhadap sel – sel normal yang kecepatan proliferasinya tinggi seperti pada sumsum tulang belakang (Dang *and* Semenza, 1999). Selain mematikan sel-sel sumsum tulang belakang, obat – obat sitostatika dapat mematikan sel normal yang lain yang aktif berproliferasi seperti sel-sel rambut, kulit, kelenjar kelamin, janin, dan gastrointestinal. Gejala yang dapat kita lihat pada pasien antara lain rontoknya rambut, mual, dan muntah. Penghambatan proliferasi sel normal oleh obat sitostatika juga terlihat pada kondisi wanita hamil. Pada wanita hamil penggunaan obat – obat sitostatika tidak dianjurkan karena akan menghambat proliferasi sel pada pembentukan janin sehingga bayi terlahir dalam keadaan cacat (King, 2000).

Penghambatan angiogenesis dan terapi gen menjadi titik tangkap yang penting dalam pengobatan kanker, hal ini dikenal sebagai terapi gen antiangiogenesis (O’ Reilly dkk., 1994). Pada tahap angiogenesis, pembentukan sel endotel merupakan target utama untuk terapi angiogenesis dikarenakan sel endotel merupakan target utama dari faktor pertumbuhan (FGF) (Matter, 2001). Penyebaran sel kanker secara hematogenik dan limfogenik sangat berhubungan dengan angiogenesis. Sel-sel tumor mengadakan penetrasi dengan cepat melalui sel endotel dan mengikuti aliran darah ke seluruh tubuh kemudian menyebar ke organ lain (Folkman, 1976). Inisiasi, invasi, dan metastatis kanker diyakini sebagai peristiwa yang sangat tergantung pada angiogenesis (Brem, 1999). Angiogenesis menjadi tahap penting dalam proses karsinogenesis (proses pertumbuhan

kanker) dikarenakan angiogenesis menginduksi pembentukan pembuluh darah baru pada jaringan tubuh yang sudah ada sebelumnya (Matter, 2001). Sel-sel kanker memerlukan pasokan nutrisi melalui pembuluh darah untuk tumbuh dan berkembang sehingga sel-sel kanker mengeluarkan zat pertumbuhan untuk merangsang pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) untuk memenuhi suplai nutrisinya (Matter, 2001).

Pada fase awal angiogenesis lebih melibatkan migrasi sel daripada pembelahan sel. Pembuluh darah kapiler utuh atau yang baru saja mengalami peradangan akan distimulasi oleh faktor angiogenik sehingga terjadi migrasi sel endotel kapiler menuju tempat peradangan (Zijlstra *et al.*, 2005). Pada beberapa jam pertama setelah peradangan dimulai, sejumlah besar neutrofil dari darah mulai menginvasi daerah yang meradang. Hal ini disebabkan oleh jaringan yang meradang akan memicu beberapa reaksi seperti berubahnya permukaan bagian dalam endotel kapiler sehingga neutrofil melekat pada dinding kapiler di area yang meradang, efek ini disebut marginasi. Selain itu produk peradangan menyebabkan longgarnya pelekatan interseluler antara sel endotel kapiler dan sel endotel venula kecil sehingga terbuka cukup lebar dan memungkinkan neutrofil untuk melewatinya dengan cara melalui dinding kapiler menuju ke daerah peradangan langsung dari darah ke dalam jaringan (Guyton and Hall, 2006).

Polimorfonuklear (PMN) terutama neutrofil adalah sel pertama yang menuju ke tempat terjadinya luka. Fungsi utamanya adalah memfagositosis bakteri yang masuk (Nugroho, 2005). Beberapa jam sesudah dimulainya radang akut, terjadi kenaikan neutrofil dalam darah kadang-kadang sampai empat hingga lima kali lipat dari (4000 – 5000) menjadi 15.000 sampai 25.000 neutrofil per mikroliter, keadaan ini disebut

neutrofilia, yang berarti terjadi peningkatan jumlah neutrofil dalam darah. Neutrofilia disebabkan oleh zat-zat pencetus peradangan yang memasuki aliran darah, kemudian diangkat ke sumsum tulang, dan bekerja pada neutrofil yang tersimpan dalam sumsum untuk menggerakkan neutrofil ini ke sirkulasi darah, sehingga membuat lebih banyak lagi neutrofil yang berada pada jaringan yang meradang (Guyton *and* Hall, 2006)

Aktivitas neutrofil sejak intravaskuler, transmigrasi ke tempat tujuan juga terjadi pada eosinofil, basofil, monosit dan limfosit. Pada jaringan target sel tersebut aktif mematikan dan menghancurkan mikroba sesuai dengan cara masing – masing. Pada saat yang sama pula terjadi peradangan (Nugroho, 2005).

Sel kanker akan menimbulkan angiogenesis dengan cara mensekresikan berbagai faktor proangiogenik seperti *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *Basic fibroblast growth factor* (bFGF) (Salas *and* Totan, 2015). *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) memiliki fungsi untuk meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel. *Basic fibroblast growth factor* (bFGF) merupakan penginduksi angiogenesis yang kuat dimana bFGF mampu merangsang densitas dan percabangan pembuluh darah di dalam tumor serta menambah volume tumor hingga dua kali lipat (Jeremy, 2006). Pada penelitian sebelumnya bFGF dimaksudkan untuk menginduksi terjadinya angiogenesis, sebagaimana yang terjadi pada keadaan kanker, sehingga pengamatan efek antiangiogenesis lebih jelas dan mekanismenya lebih terarah (Jenie dkk., 2006).

Telur ayam berembrio banyak digunakan sebagai metode untuk mempelajari proses perkembangan tumor pada manusia (Becker *and* Hibley, 1998; Ribatti *et al.*, 2000). Metode pengujian *in vivo* ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan pengujian *in vitro* dengan menggunakan kultur sel, dimana pada pengujian *in vivo* tidak memerlukan media dan

kondisi laboratorium yang rumit sehingga biaya yang dibutuhkan relatif murah. Telur berembrio diharapkan menggambarkan kondisi *in vivo*. Kondisi *in vivo* yang dimaksudkan adalah adanya metabolisme dan perkembangan sel-sel embrio di dalam telur yang berlangsung terus menerus. Hasil pengujian yang baik dipengaruhi oleh umur embrio telur ayam, aplikasi rute pemberian terhadap bagian dari telur seperti pada embrio, membran korioalantois, dan kantung kuning telur (Johnston *et al.*, 1997; Ribbati *et al.*, 2000)

Pada terapi kuratif kanker, pengembangan agen kemopreventif didasarkan pada regulasi daur sel termasuk reseptor-reseptor hormon pertumbuhan, protein kinase, penghambatan angiogenesis, penghambatan enzim siklooksigenase-2 (COX-2), dan induksi apoptosis. Agen kemopreventif mempunyai target aksi spesifik melalui mekanisme-mekanisme molekuler tersebut. Keadaan tidak normal pada daur sel dan regulasi apoptosis, menyebabkan peningkatan enzim COX-2 (Chang *and* Kinghorn, 2001).

*Nonsteroidal Anti-inflammatory drugs* (NSAID) mampu merangsang apoptosis dan menghambat angiogenesis, dua mekanisme ini membantu untuk menekan pertumbuhan tumor. Pada beberapa studi epidemiologi yang dilakukan, penderita yang menggunakan NSAID memiliki resiko yang lebih rendah terkena kanker kolorektal dibandingkan pada non pengguna. Celecoxib merupakan obat golongan NSAID yang sering digunakan dalam terapi kanker. Celecoxib bekerja secara selektif sebagai inhibitor siklooksigenase-2 (COX-2), dimana Celecoxib diketahui sebagai agen anti kanker (Thun *et al.*, 2002). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa celecoxib mampu menurunkan jumlah sel PMN pada histopatologi membran korioalantois telur ayam berembrio yang diinduksi dengan bFGF (Ese, 2016).

Pengembangan obat antikanker yang berasal dari bahan alami sudah digalakkan pada saat ini, mengingat sumber tanaman tersebut banyak terdapat di Indonesia. Salah satu tanaman alternatif tersebut adalah biji jintan hitam (*Nigella sativa*). Pada beberapa penelitian yang sudah dilakukan jintan hitam memiliki aktivitas antitumor yang kuat. Ekstrak biji jintan hitam mampu menghambat kanker serta menghambat perkembangan sel endotel melalui siklus sel, dan memicu penurunan produksi faktor pertumbuhan protein fibroblastik angiogenik (FGF) (Medenica *et al.*, 1997). Biji jintan hitam juga mampu menginduksi apoptosis dengan cara mengaktivasi gen – gen pemicu apoptosis seperti gen p53 (gen penghenti ekspresi tumor) dan Bax (gen yang menginduksi program kematian sel) (Gendy *et al.*, 2007). Suatu tanaman dapat digunakan sebagai antikanker apabila tanaman tersebut mengandung senyawa sitotoksik. Jintan Hitam mengandung dua golongan senyawa utama yaitu terpen dan alkaloid, serta mengandung sebagian kecil saponin. Terpen yang terutama adalah thymoquinone dan polimernya seperti dithymoquinone, *p*-cimene dan *α*-pinene. Alkaloid yang banyak terdapat dalam biji *N. sativa, L* adalah nigellamine. Biji jintan hitam, mengandung asam lemak tak jenuh, misalnya linoleic dan asam gammalinolen, dari beberapa senyawa tersebut yang memiliki efek sebagai antitumor adalah thymoquinone, dithymoquinone, *p*-cimene, *α*-pineneningellon, thymoquinon, serta asam lemak (Nurani, 2012).

Berdasarkan latar belakang penelitian di atas maka pada penelitian ini akan dibuktikan efek pemberian Jintan Hitam sebagai tanaman obat alternatif dalam menekan tumbuhnya sel kanker dengan mengamati efek hambatan angiogenesis melalui pengamatan pembentukan jumlah sel polimorfonuklear (PMN) dalam jaringan, dimana PMN merupakan salah satu indikator yang berperan sebagai neoangiogenesis. Penelitian ini dapat

juga digunakan untuk pengembangan penelitian selanjutnya dalam penemuan obat kanker.

## **1.2 Rumusan Masalah**

- 1.2.1. Apakah pemberian ekstrak biji Jitan Hitam (*Nigella Sativa*) dapat menurunkan jumlah sel PMN pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi bFGF?
- 1.2.2. Apakah dapat diketahui dosis optimal ekstrak biji Jitan Hitam (*Nigella Sativa*) terhadap jumlah sel PMN pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi bFGF?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

- 1.3.1. Untuk mengetahui aktivitas antiangiogenesis dari Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) pada jumlah sel PMN membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) yang diinduksi bFGF
- 1.3.2. Untuk mengetahui dosis optimal dari ekstrak biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*).

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

- 1.4.1. Terdapat penurunan Jumlah sel PMN pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB) setelah pemberian Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) yang diinduksi bFGF.
- 1.4.2. Dapat ditentukan pemberian dosis optimal ekstrak biji Jintan Hitam terhadap penurunan jumlah sel PMN pada membran korioalantois telur ayam berembrio (TAB).

## **1.5 Manfaat Penelitian**

- 1.5.1. Dengan dilakukan penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan mengenai aktivitas antiangiogenesis Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) dan *Celecoxib* pada sel PMN.
- 1.5.2. Jintan Hitam dapat digunakan sebagai tambahan terapi pada penderita kanker.