

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Adenokarsinoma mamma

Kanker payudara ditentukan jenisnya berdasarkan pemeriksaan histopatologi. Hasil histopatologi yang terbanyak adalah adenokarsinoma. Histopatologi adenokarsinoma menunjukkan asal sel-sel tumor adalah dari sel-sel epitel payudara terutama bagian *ductus* dan *lobulus*.^{13,44}

2.1.1. Etiologi

Etiologi adenokarsinoma mamma masih belum diketahui dengan pasti.

Secara umum terdapat 3 faktor yang berperan penting sehingga terjadi kanker payudara :

a. Faktor genetik

Kurang lebih 5-10% penderita kanker payudara merupakan penyakit yang diturunkan sedangkan sisanya adalah mutasi genetik yang sporadik. Gen *breast cancer susceptibility 1* (BRCA1) dan BRCA2 telah diketahui merupakan gen yang terlibat dalam kanker payudara yang diturunkan. Faktor ini diketahui lewat percobaan memakai tikus dengan galur sensitif kanker. Faktor yang terkena ada di kromosom 17q21 dan 13q12.3, hal ini ditemukan pada penderita usia muda. Kehilangan ekspresi gen BRCA1/2 serta gen p53 karena mutasi dan kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) menyebabkan defek

pada kontrol titik peralihan siklus sel. Kerusakan DNA disebabkan oleh onkogen-onkogen, paparan radiasi atau obat-obatan.^{13,45-48}

b. Hormon

Tingginya paparan hormon reproduksi wanita sepanjang hidup merupakan faktor risiko terjadinya kanker payudara. Risiko terkena kanker payudara lebih tinggi bila usia menarche awal dan usia menopause lambat.¹³

Epitel payudara memiliki reseptor estrogen dan progesteron yang berperan penting dalam perkembangan massa tumor. Berbagai bentuk *growth promoters* (*transforming growth factor-alpha epithelial growth factor, platelet-derived growth factor*), *fibroblast growth factor* dan *growth inhibitor* disekresi oleh sel kanker. Produksi *growth factor* (GF) tergantung pada hormon estrogen. Interaksi antara hormon di sirkulasi, reseptor hormon di sel kanker dan GF autokrin merangsang sel kanker berubah menjadi lebih progresif.^{13,49}

c. Faktor diet, kebiasaan hidup dan lingkungan.

Faktor ini terdiri dari alkohol, kopi, diet tinggi lemak dan obesitas. Berdasarkan penelitian *The International Agency for Research on Cancer* dan *American Cancer Society* serta bagian *Preventive Medicine* Fakultas Kedokteran Universitas Nagoya terdapat relasi linear antara konsumsi alkohol, kopi, diet tinggi

lemak yang berlebih serta obesitas terhadap tingginya risiko terjadinya kanker payudara.^{13,50}

2.1.2. Klasifikasi

Berdasarkan gambaran histologis, *World Health Organization* (WHO) membuat klasifikasi kanker payudara sebagai berikut:¹³

1. Kanker payudara non invasif
2. Kanker payudara invasif

Berdasarkan gambaran gejala klinik, klasifikasi stadium ditentukan dengan sistem *tumor nodule metastasis* (TNM) menurut *Union for International Cancer Control* (UICC)¹⁴. Sedangkan standar utama tetap dilakukan pemeriksaan histopatologi. Adenokarsinoma adalah hasil histopatologi yang paling banyak ditemukan.¹³

2.2. Perkembangan massa tumor

Sel-sel di payudara mula-mula mengalami transformasi genetik, mutasi gen dan translokasi kromosom sehingga berubah menjadi ganas karena pengaruh onkogen dan faktor-faktor risiko tersebut diatas. Sebagian besar onkogen dapat dibagi menjadi empat kelas: faktor-faktor transkripsi, *growth factors*, reseptor-reseptor, dan *signal transducers*. Secara umum onkogen tak dapat bergerak sendiri namun harus berkolaborasi dengan onkogen lain atau dengan hilangnya sifat *tumor suppressor*. Setelah transformasi, sel-sel ganas tumbuh dengan progresif dan tak terkontrol karena insensitif pada sinyal antiproliferasi serta resisten terhadap apoptosis.

Sel-sel tumor menginvasi stroma dan berkomunikasi dengan sel-sel stroma. Sel-sel tumor tersebut masih avaskular dan nutrisi dipenuhi melalui difusi sederhana. Sel-sel tumor dan sel-sel induk bersama-sama memicu pertumbuhan dan metastasis dengan cara mengaktivasi jalur GF, melancarkan invasi dan angiogenesis.^{13,16,44,49,51}

Sel-sel tumor mempunyai kemampuan membentuk GF sendiri. Kemampuan tersebut berjalan bersama dengan adanya sinyal antipertumbuhan serta resistensi terhadap apoptosis. Protein B cell lymphoma 2 (Bcl-2) di sel tumor terdiri dari protein yang proapoptotik dan yang antiapoptotik. Anggota dari keluarga Bcl-2 yang proapoptotik (Bcl-2 *associated X protein* [Bax], Bcl-2 *antagonist/killer* [Bak], BH3 *interacting domain death agonist* [Bid], Bcl-2 *interacting mediator of cell death* [Bim]) serta yang antiapoptotik (Bcl-2, *basal cell lymphoma extra large* [Bcl-XL], Bcl-W) mengatur sinyal di mitokondria. Bcl-2 antiapoptotik dan juga mutasi *tumor suppressor gene* p53 merupakan komponen kunci yang menghambat induksi kaskade apoptotik serta memicu VEGF membuat neoangiogenesis.^{13,16,43,48,50,52}

Faktor transkripsi, faktor nuklear- κ B (NF- κ B), sangat penting dalam terbentuknya keganasan karena memicu terjadi mutasi gen, yaitu gen antiapoptosis, gen proangiogenesis, dan proinvasi. Faktor transkripsi teraktivasi bila ada sitokin proinflamasi (TNF), virus, radiasi γ , komponen dinding sel bakteri (*lipopolysaccharide* [LPS]), atau agen-agen kemoterapi. TNF, interleukin (IL-1 β , IL-6, IL-17, dan IL-18), *chemokine* (IL-8 atau

CXCL8) berperan penting untuk terbentuknya keganasan. TNF dihasilkan oleh makrofag dan mengatur keseimbangan angiogenesis saat perkembangan massa tumor. Sewaktu TNF mengaktifkan NFκB, produksi VEGF bertambah dan meningkatkan ekspresi reseptor VEGF yang akhirnya memicu angiogenesis.^{17,19,20,53,54}

Angiogenesis bertujuan memastikan bahwa pembuluh darah cukup sewaktu tumor berkembang. Angiogenesis memerlukan VEGF yang dikeluarkan oleh sel tumor solid yang sedang tumbuh. Hanya tumor yang berjarak 100 μm dari pembuluh darah yang dapat hidup sehingga pembuluh darah-pembuluh darah baru sangat diperlukan. Sel-sel induk melawan metastasis dengan *tissue barriers*, mengirim sel imun untuk membunuh tumor, salah satunya adalah makrofag dan menghambat angiogenesis.^{13,16,17,19-21, 44,49,51}

Struktur dasar pembuluh darah adalah lumen sentral yang dilapisi sel-sel endotel dikelilingi membran basal. Tergantung dari tipe pembuluh darah, struktur dasar dikelilingi oleh satu atau lebih sel-sel pendukung disebut *pericytes*, sel-sel otot polos dan matriks ekstraseluler dimana terdapat fibroblas juga. Angiogenesis, pertumbuhan pembuluh darah-pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada dengan *sprouting growth*, merupakan proses rumit yang terdiri dari empat langkah utama. Langkah pertama adalah dicernanya membran basal yang mengelilingi pembuluh darah oleh protease yang disekresi oleh sel-sel endotel, langkah kedua adalah migrasi sel-sel endotel yang bersirkulasi ke posisi formasi

pembuluh darah, dimana mereka berproliferasi untuk membentuk tonjolan pembuluh darah, langkah ketiga adalah proliferasi dan diferensiasi sel-sel endotel untuk memperpanjang tonjolan dan membentuk lumen pembuluh darah baru, akhirnya terjadi sekresi *growth factors* oleh sel-sel endotel, yang menarik sel-sel pendukung seperti *pericytes* dan sel-sel otot polos sehingga terbentuk formasi membran basal. Pembuluh darah – pembuluh darah baru membentuk bangunan spesial yang cocok untuk mensuplai jaringan atau organ.⁵⁵⁻⁵⁸

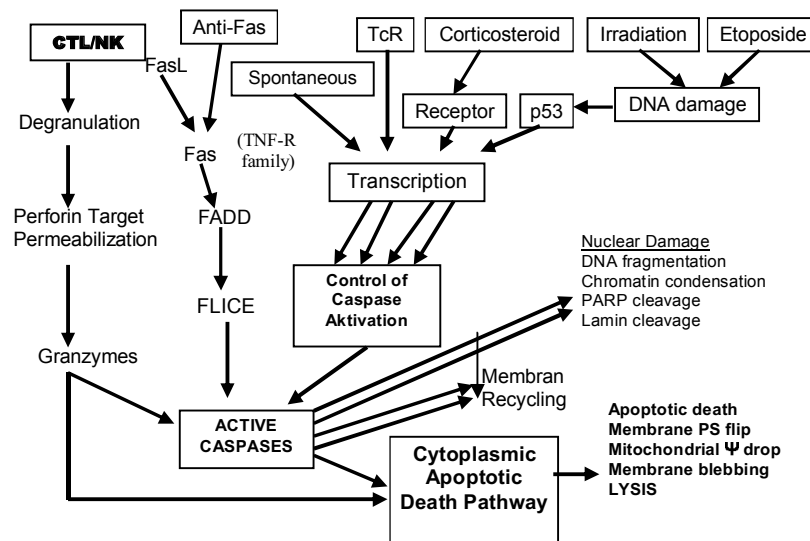
Pada kanker payudara, aktivitas angiogenik tingkat rendah dapat terdeteksi pada lesi preneoplastik. Aktivitas ini makin progresif ketika kanker menjadi tingkat neoplastik. Ekspresi VEGF, protein angiogenik, meningkat karena respon dari hipoksia saat tumor semakin berkembang. Sebuah segmen kapiler yang terbentuk oleh satu sel endotel dapat menyokong 5 sampai 50 sel-sel tumor.³⁸

Proses kematian sel yang terprogram atau *programmed cell death* bermanfaat untuk membuang sel-sel yang tidak berguna dan berbahaya. Proses ini disebut apoptosis. Apoptosis diregulasi oleh keluarga gen Bcl, yaitu proapoptotik (Bax, Bcl-2 antagonist/killer [Bak], Bid, Bim) yang meningkat serta yang antiapoptotik (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W) yang menurun juga *tumor suppressor gene* p53 yang termutasi. Selama apoptosis, sel akan mengeluarkan sinyal ke ekstraseluler berupa fosfolipid pada membran selnya yang dapat dikenali oleh sel-sel imun, terutama makrofag.^{31,60-62}

Banyak stimulasi yang dapat menginduksi apoptosis, seperti agen

kemoterapi, radiasi, panas, *osmotic imbalance*, dan *nitric oxide* (NO). Berdasarkan penelitian terdahulu banyak jalur sinyal untuk mengaktifasi apoptosis (Gambar 1.1). Terdapat bermacam-macam jalur yang mengarah terjadinya apoptosis, yaitu jalur ekstrinsik, jalur intrinsik, aktivasi kaskade *caspase*, dan jalur p53.^{59,62,64,65}

Apoptosis diinduksi oleh CTL dan sel-NK yang diinduksi baik oleh *nonsecretory induced*, *ligand-induced*, dan *secretory induced* dengan granzyme melalui perantara sekresi perforin.^{45,51}



Gambar 1.1. Jalur kematian sel target
Dikutip dari Lodish H, et al.⁶²

Jalur *caspase* dimulai dengan dipicunya enzim *caspase* aktif, di mana *caspase* ini merupakan suatu molekul protein 10 dan 20 kD berupa *protease cystein*. Saat ini dikenal ± 14 jenis *caspase*. Dua pertiga dari

seluruh jenis *caspase* tersebut berperan penting dalam apoptosis. *Caspase* inisiator 2,8,9,10 diaktifkan oleh dimerisasi dan selanjutnya mengaktifkan *caspase* 3 dan 7. Protein target dari *caspase* ini adalah protein *DNA repair system* (seperti [ADP-ribose]-polymerase [PARP]), protein struktural/sitoskeletal (seperti lamin, actin, cytokeratin, dll), dan onkoprotein (terutama protein Rb). Teori yang terakhir ditemukan, *caspase* juga akan mengaktifkan DNase yang menyebabkan fragmentasi DNA selama apoptosis sehingga yang akan terjadi adalah melisutnya organel dan inti sel. Proses apoptosis berbeda dengan nekrosis. Proses ini tidak menyebabkan sel pecah sehingga tidak ada komponen intraseluler yang terdispersi ke ekstraseluler dan mengakibatkan inflamasi seperti halnya proses nekrosis. ^{59,60,62,66}

Khusus untuk jalur *caspase*, dapat diaktifkan oleh granzyme, dapat pula melalui suatu katalisator protease yaitu FLICE (*FADD-like IL-1 converting enzyme*) yang terdiri dari FADD (*Fas-associated death domain*), pada reseptor CD95/Fas, setelah kontak dengan Fas Ligand. Pengaktifan *caspase* melalui reseptor CD95/Fas terjadi bila kontak dengan Fas Ligand. Fas Ligand ini bisa berasal dari ekspresi protein antigen dari CTL, sitokin TNF, ataupun metabolit ligand pada reseptor Fas. Fas merupakan anggota reseptor *tumor necrosis factor* (TNF) yang merupakan bagian jalur apoptosis ekstrinsik. ^{60,62}

Apoptosis dengan jalur *secretory induce caspase* dilakukan oleh CTL dan sel-NK oleh granula sitotoksiknya yang berisi protein *pore-*

forming perforin (*cytolysin*) dan enzim keluarga dari *serine protease* yang bernama granzyme sebagai senjata dari CTL/sel-NK. Granzyme ini terdiri dari granzyme B, granzyme A, C, D, E, F, G, H, K, dan M. Perforin tersebut masuk ke membran sel target sehingga terbentuk pori-pori transmembran, yang memfasilitasi masuknya granzyme ke sitoplasma sel target. Segera setelah masuk ke sitoplasma, granzyme menginduksi apoptosis dengan mengaktifkan secara langsung *caspase* dan fragmentasi DNA secara cepat.
30,61,66

Jalur intrinsik apoptosis menggunakan mitokondria. Mitokondria berperan sentral untuk integrasi dan eksekusi bermacam-macam sinyal apoptotik (misalnya hipoksia, hilangnya GF, kerusakan DNA) dan menyediakan energi untuk membebaskan protein proapoptotik seperti *cytochrome C*. Keluarga protein Bcl-2 berperan penting pada regulasi di jalur ini. Protein Bcl-2 teraktivasi menempel di membran luar mitokondria untuk membentuk kanal konduksi, menyebabkan *cytochrome C* translokasi dari matriks intermembran ke sitoplasma. *Cytochrome* bergabung dengan *adenosine tri-phosphate* (ATP), *apoptotic protease activating factor-1* (Apaf-1) dan *procaspase 9* untuk membentuk apoptosome, yang mengaktifkan *caspase 9* dan *caspase 3* sehingga sel mati. Bax juga berperan penting di proses ini.^{60,63}

Protein p53 merupakan faktor transkripsional, diaktivasi oleh kerusakan DNA seperti kerusakan *double-strand* setelah sel terpapar radiasi, stres atau terkena zat kimiawi. P53 meregulasi gen target seperti Bax dan

Bid. Siklus sel G1 terblokir dengan aktivasi transkripsional oleh p53. Hal ini mencegah pertumbuhan tumor melalui penghentian siklus sel atau induksi apoptosis.^{62,68}

2.3. *Vascular endothelial growth factor (VEGF)*

Pertumbuhan sel-sel sangat tergantung adanya proses angiogenesis untuk memberi makan dan menjamin kebutuhan nutrisi sel-sel tumor yang tumbuh cepat. Angiogenesis sebagai usaha agar tumor dapat berinvasi dan bermigrasi ini memerlukan suatu GF yaitu VEGF yang diproduksi oleh sel-sel tumor tersebut. VEGF adalah glikoprotein homodimerik dengan berat molekul 40 kDa dan diproduksi oleh sel-sel di tubuh sejak mulai perkembangan embrio. Tumor solid yang aktif juga memproduksi VEGF dalam rangka pertumbuhannya.^{15,16,17,55,69}

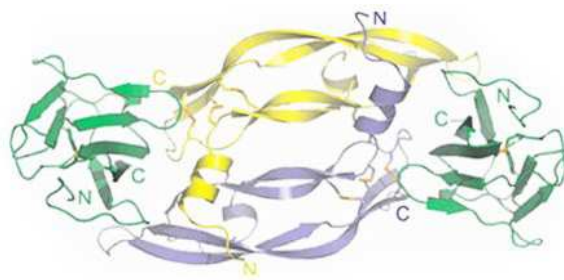
Terdapat bermacam-macam VEGF yaitu VEGF-A (selanjutnya disebut VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, dan *placental growth factor* (PlGF). Seluruh keluarga VEGF tersebut mempunyai afinitas yang berbeda-beda kepada satu dari tiga VEGF *tyrosine kinase receptors*: VEGF *receptor-1* (VEGFR-1), VEGFR-2, dan VEGFR-3. VEGF adalah ligand untuk reseptor tirosin kinase VEGFR-1 dan -2, yang dikenal dengan nama *Fms-like tyrosine kinase* (Flt-1) dan *kinase insert domain-containing receptor* (KDR/Flk-1). Kedua reseptor tirosin kinase ini berafinitas tinggi serta diekspresikan terutama oleh sel-sel endotel. VEGF bersama dengan VEGF-B dan VEGF-E berhubungan dengan angiogenesis. VEGF berperan memicu sekresi protease seperti *matrix metalloproteinases* (MMPs) saat

berikatan pada VEGFR-1 pada sel endotel. Protease tersebut untuk mendegradasi matriks ekstraselular sebagai tempat tumbuhnya pembuluh darah baru. VEGF juga berperan meningkatkan permeabilitas dinding pembuluh darah bersama dengan NO yang dihasilkan dari L-arginine oleh *nitric oxide synthase* (NOS). VEGF-C dan VEGF-D berperan di sel endotel pembuluh limfe untuk limfangiogenesis dengan berikatan pada VEGFR-3 (Flt-4) selain berikatan pada VEGFR-2.^{25,55,56,69-71}

Konsentrasi oksigen yang berkurang mengindikasikan diperlukannya pembuluh darah – pembuluh darah tambahan supaya tumor berkembang. Kondisi tersebut meningkatkan ekspresi VEGF. Saat sel mengalami kekurangan oksigen akan diproduksi *hypoxia-inducible factor* (HIF) yaitu sebuah *transcription factor*. HIF akan berakumulasi dan berikatan dengan *hypoxia-responsive element* (HRE). Aktivasi ini melibatkan beberapa *signal transduction pathways*, termasuk *phosphoinositide 3'kinase* (PI3K), *extracellular regulated kinase* (Erk) 1 / 2 dan jalur *protein kinase C* (PKC). VEGF dilepaskan dari sel dalam bentuk ikatan homodimer disulfida terglisilasi. VEGF memicu respon seluler melalui ikatan pada reseptor tirosin kinase (VEGFRs) pada permukaan sel, yang menyebabkan reseptor ini mengalami dimerisasi menjadi aktif melalui transfosforilasi.^{25,55,56,69-78}

Fungsi utama VEGF mempunyai aktifitas yang terbatas pada sel-sel endotel vaskuler, meski mempunyai efek yang kecil terhadap sel lain seperti stimulasi migrasi monosit dan makrofag maupun mencegah apoptosis. Secara *in vitro*, VEGF memicu mitogenesis serta migrasi sel endotel. VEGF

juga memudahkan invasi dan migrasi sel-sel dengan cara meningkatkan permeabilitas mikrovaskuler dan kadangkala berkaitan dengan *vascular permeability factor*. Onkogen Bcl-2 juga bekerjasama dengan hipoksia menginduksi VEGF dan HIF sehingga sel-sel tumor bermetastasis dan potensi angiogenik meningkat.^{15,78,79}



Gambar 2.1. Struktur molekul VEGF-VEGFR-1

Kedua monomer VEGF berwarna biru dan kuning, dua molekul reseptor berwarna hijau.
Dikutip dari Ferrara N.⁷⁶

VEGF mempunyai peran penting terhadap buruknya prognosis pada kanker payudara. Banyak studi mencatat adanya penurunan *overall survival* dan *disease free survival* pada tumor-tumor dengan ekspresi VEGF yang berlebih. Peningkatan ekspresi VEGF merupakan tahap awal metastasis, yaitu tahap yang memerlukan pembuluh darah baru dan banyak. Walaupun VEGF telah diketahui mempunyai korelasi dengan buruknya survival, namun mekanisme pasti terhadap perkembangan tumor masih belum jelas.^{55,56,69,71,80}

Inhibisi angiogenesis tumor dengan menghambat aksi VEGF adalah strategi terapi yang rasional. Inhibisi VEGF diharapkan mencegah terjadi

formasi baru pembuluh darah, serta strategi penghambatan pada Bcl-2 dengan menginduksi apoptosis juga dapat mencegah sel endotel pembuluh darah tumbuh, akhirnya menghambat perkembangan tumor dan metastasis.
52,55,73,74

VEGF bersinergi dengan TNF. TNF adalah protein multifungsi berupa sitokin. TNF merupakan mediator utama respon inflamasi yang menyebabkan tumor nekrosis *in vivo* dan meregresi tumor, juga sitotoksik terhadap beberapa sel normal maupun yang telah bertransformasi, dan memicu imunitas. Penghasil utama TNF adalah fagosit mononuklear yang aktif yaitu makrofag, walaupun *antigen-stimulated T cells*, sel-sel NK, dan *mast cells* dapat juga mensekresi protein ini.

Endotel adalah target penting aksi TNF. TNF meningkatkan ekspresi antigen *major histocompatibility class I* (MHC I *antigen*) dan produksi faktor-faktor kemotaktik serta sitokin-sitokin lain. TNF mengubah fungsi pertahanan dan permeabilitas sel endotel.

Agar TNF dapat bekerja diperlukan reseptor dan ikatan dengan ligand. Reseptor-reseptor ini mengaktifkan protein-protein intraseluler yang terkait dalam menginduksi apoptosis. Terdapat dua reseptor TNF dengan berat molekul 55kD (disebut reseptor TNF tipe I [TNF-RI], atau reseptor p55) dan 75 kD (disebut reseptor TNF tipe II [TNF-RII], atau reseptor p75). Reseptor-reseptor TNF ini merupakan bagian dari keluarga besar protein, sebagian besar berespon imun dan inflamasi. Sitokin berikatan dengan beberapa anggota keluarga reseptor TNF. Molekul-molekul sinyal di

sitoplasma yang berisi *death domain* dan berperan dalam sinyal TNFR adalah TNF *receptor-associated death domains* (TRADD), *Fas-associated death domain* (FADD), dan *receptor interacting protein* (RIP). Tipe kedua yang berperan dalam sinyal TNFR adalah keluarga molekul yang bernama TNF *receptor-associated factors* (TRAFs). Enam buah TRAF telah teridentifikasi. TRAFs segera mengaktifkan faktor-faktor transkripsi, yaitu faktor nuklear κ B (NF- κ B) dan protein aktivasi 1 (AP-1). Saat sitokin berikatan dengan TNF-RI, terjadi rekrutmen protein adaptasi yang mengaktifkan *caspases* dan memicu apoptosis. TRADD kemudian berikatan dengan TNF-R1. Dalam hal ini, peran TNF dapat bercabang kearah apoptosis atau respon inflamasi-ekspresi gen untuk protein-protein agar dapat bertahan hidup. Hal ini dimulai pertama-tama saat TRADD berikatan TNF-R1 tersebut. Kemudian *death domain protein* FADD berikatan dengan TRADD dan FADD berikatan dengan caspase 8. Caspase 8 memulai aktivasi *cascade* dari *caspases* sehingga terjadi apoptosis.

Jalur yang lain setelah TRADD berikatan dengan TNF-RI adalah untuk mentranskripsi gen. TRAF-2 dan RIP-1 dan TRADD berikatan sehingga kinases I κ B aktif, fosforilasi I κ B berjalan serta transkripsi gen NF- κ B dan AP-1 terjadi. Hal ini menyebabkan mediator-mediator inflamasi serta protein-protein pertahanan hidup keluar.

TNF-RII, merekrut protein-protein TRAFs, menuju domain sitoplasmik reseptor tersebut. TNF-RII berperan dalam sitotoksitas, menghambat hematopoiesis awal dan proliferasi monosit.

TNF mengatur keseimbangan angiogenesis. Sewaktu TNF mengaktifkan NFκB, produksi VEGF bertambah dan meningkatkan ekspresi reseptor VEGF. TNF dan VEGF bekerja sama dalam formasi struktur mirip kapiler selama angiogenesis. Namun TNF juga bersinergi menginduksi *endothelial cell tissue factor* yang dapat menghambat perkembangan tumor melalui aktivitas prokoagulan *clot-promoting*. TNF menghambat kemampuan VEGF untuk mengaktifkan salah satu reseptor VEGF bila kondisi normal, tidak dalam arah perkembangan tumor.^{60,81}

2.4. *Phaleria macrocarpa*

Phaleria macrocarpa merupakan tanaman dari kingdom *Plantae*, subkingdom *Tracheobionta*, superdivisi *Spermatophyta*, divisi *Magnoliophyta*, kelas *Magnoliopsida*, subkelas *Rosidae*, ordo *Myrtales*, family *Thymelaeaceae*, genus *Phaleria*, spesies *Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl. Sinonimnya adalah *Phaleria papuana*, sesuai dengan asal tanaman ini yaitu dari Papua Indonesia. Tanaman berbentuk pohon perdu. Tinggi hanya 1-2,5 meter. Buah bulat, panjang 3-5 cm, terdiri dari kulit, daging, cangkang, dan biji. Buah muda berwarna hijau, setelah tua berwarna merah. Ketebalan kulit buah 0,5-1,0 mm, tebal daging bervariasi. Cangkang berwarna putih dengan ketebalan mencapai 2 mm. Daging buah berwarna putih, berserat dan berair.^{21,27}

Tanaman ini mengandung zat aktif polifenol, alkaloid, terpenoid, gallic acid, dan saponin. Zat tanin, sterol, dan terpen juga terkandung dalam tumbuhan ini dalam jumlah sedikit. Polifenol berfungsi sebagai antikanker

dan antihistamin.²¹

Daging buah dan kulit buah *Phaleria macrocarpa* dibuat menjadi ekstrak terlebih dahulu. Dosis *Phaleria macrocarpa* pada manusia adalah 5 gram. Pemberian *Phaleria macrocarpa* adalah satu kali sehari.²¹

Daging buah, terutama biji beracun. Jika buah segar dimakan langsung akan menyebabkan pembengkakan dan kehilangan sensasi di mulut, mabuk, kaku, atau pingsan. Penggunaan dosis secara berlebihan dalam jangka panjang dapat menyebabkan sakit kepala.²¹

Penelitian Sukemti dan Soegihardjo menggambarkan ekstrak tanaman ini berpotensi untuk memiliki aktifitas biologi / efek farmakologi. Percobaan dilakukan dengan melihat tingkat mortalitas terhadap larva udang *Artemia Salina* Leach setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasilnya nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva udang (LC50) berkisar antara 0,1615 – 11,8351 µg/ml (semakin kecil nilai LC50, semakin toksik tanaman tersebut), dengan batas aktifitas biologi tanaman adalah $LC50 < 1000 \mu\text{g/ml}$.²⁵

Sumastuti, dkk melakukan pengujian terhadap sel HeLa, menggunakan ekstrak buah *Phaleria macrocarpa* dengan dosis 1, 5, 10, 50, 100, 200 µg/mL dan dengan menggunakan kontrol positif Doxorubicin dengan dosis 0,5, 1, 5, 10, 20, 50 µg/mL. Penelitian ini menampilkan hasil bahwa pada 24 jam inkubasi, efek sitotoksik ekstrak buah lebih bermakna dibandingkan efek sitotoksik Doxorubicin.⁴²

Polifenol mempunyai efek menginduksi terjadinya apoptosis

melalui jalur TNF- α , di mana apoptosis sel akan dimulai dari *Fas / TNF-RI receptor*.⁵⁹ Pada penelitian Budijitno dkk, mencit C3H yang menderita adenokarsinoma mamma diberikan ekstrak *Phaleria macrocarpa* dengan pelarut ethanol melalui cara sokletasi. Perlakuan selama 3 minggu dengan dosis 0,0715 mg/hari atau setara 5 gram crude/hari yang sudah diberikan pada manusia, mendapatkan hasil bahwa ekspresi perforin CTL dan sel-NK serta indeks apoptosis sel tumor (dengan pengecatan hematoxylin & eosin [H&E]) mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kontrol, dan terjadi hambatan pertumbuhan diameter tumor yang signifikan. Pada pemberian dosis sampai dengan 0,140 mg/hari tidak ditemukan adanya toksisitas/kerusakan organ vital seperti ginjal, hepar, lien, dan otot jantung.^{37,38}

Widyasari dkk menemukan bahwa ekstrak etanol biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Sceff]. Boerl) bersifat sitotoksik pada *cell line* Ca colon WiDr melalui pengaktifan caspase-3, serta peningkatan dosis menyebabkan peningkatan ekspresi caspase-3 aktif. Ekstrak etanol biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Sceff]. Boerl) lebih poten dibandingkan dengan 5-FU dalam mengaktifkan caspase-3 pada *cell line* Ca colon WiDr.³⁹

Dalam penelitiannya, Syukri dan Saepudin menemukan bahwa dosis 25 mg ekstrak etanol daging buah mahkota dewa menurunkan kejadian tumor pada organ hati, ginjal, limfa, paru, lambung, dan usus daripada dosis 6,25 mg atau 12,5 mg, sehingga potensial sebagai agen

antikanker.⁴⁰

Tandrasasmita dkk menemukan bahwa *Phaleria macrocarpa* dapat menghambat proliferasi, migrasi, dan potensi invasi penyakit dengan secara signifikan menurunkan phosphoinositide-3 (PI3)-kinase/protein kinase B (Akt). Dengan turunnya PI3K, induksi proapoptosis Bax, Bad, Puma turun sehingga terjadi induksi sinyal sel kematian dengan cara diaktifkannya caspase-9 dan fragmentasi DNA. Hal ini menunjukkan *Phaleria macrocarpa* adalah agen antikanker melalui jalur apoptosis sel kanker payudara.⁴¹