

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. TUMOR GANAS PAYUDARA

2.1.1. Anatomi dan Histologi

Kelenjar payudara adalah khas untuk golongan mamalia. Jumlah kelenjar berbeda tergantung jenis spesies. Kelenjar payudara dewasa terletak diantara lapisan luar dan dalam fasia pektoralis superfisialis dinding dada depan, berada pada celah iga depan ke dua sampai ke tujuh.

Kelenjar payudara merupakan kelenjar *tubuloalveolar* terdiri atas 15 – 25 lobus yang berfungsi mengeluarkan air susu. Setiap lobus terpisah oleh jaringan ikat padat dan banyak jaringan lemak yang sesungguhnya merupakan kelenjar itu sendiri dengan saluran *laktiferus ekskretorius*.^{12,13}

2.1.2. Etiologi dan patogenesis

Keganasan payudara adalah adalah penyakit yang disebabkan karena adanya populasi sel kelenjar payudara yang terus menerus membelah diri secara tidak terkendali, tanpa mengikuti mekanisme pengaturan yang berlaku.¹²⁻¹⁴ Faktor - faktor yang mempengaruhi kejadian tumor ganas payudara :¹²⁻¹⁴

a. Faktor genetik

Faktor turunan pada suatu keluarga yang terkena tumor ganas payudara.

Kelainan ini diketahui terletak di lokus kecil di kromosom 17q21 pada tumor

ganas payudara yang timbul saat usia muda, Selain itu, p53, Bcl2, BRCA1 dan BRCA2 juga diduga ikut berperan dalam kejadian tumor ganas payudara.

b. Jenis kelamin

Tumor payudara umumnya diderita oleh wanita, namun bisa juga ditemukan pada laki – laki dengan insiden yang sangat kecil.

c. Hormon

Kelebihan hormon estrogen endogen atau lebih tepatnya ketidak seimbangan hormon didapati pada kanker payudara. Banyak faktor resiko yang dapat disebutkan seperti masa reproduksi yang lama, nulipara, dan usia tua saat mempunyai anak pertama akan meningkatkan estrogen pada siklus menstruasi. Wanita pasca menopause dengan tumor ovarium fungsional dapat terkena kanker payudara karena adanya hormon estrogen berlebihan. Epitel payudara normal memiliki reseptor estrogen dan progesteron. Kedua reseptor ditemukan pada sebagian besar kanker payudara. 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 payudara manusia.

d. Umur

Umur saat menarche yang kurang dari 11 tahun, menopause lebih dari usia 55 tahun, dan berumur lebih dari 30 tahun saat kehamilan anak pertama merupakan faktor resiko yang berhubungan dengan umur.

e. Faktor lingkungan

Pengaruh lingkungan diduga karena berbagai faktor : alkohol, diet tinggi lemak, kecanduan minum kopi, dan infeksi virus. Hal tersebut mungkin mempengaruhi onkogen dan gen supresi tumor dari tumor ganas payudara.

2.1.3 Klasifikasi

Berdasarkan gejala klinis, *Internasional Union Against Cancer 2002* (UICC) membuat klasifikasi berdasarkan TNM (ukuran tumor, pembesaran limfonodi dan adanya metastase) sebagai berikut.^{15,16}

T = Tumor primer

Tx = tumor primer tak dapat diperiksa

T0 = tidak terdapat tumor primer

Tis = karsinoma in situ

Tis (DCIS) *ductal carcinoma in situ*

Tis (LCIS) *lobular carcinoma in situ*

Tis (*paget*) *paget disease*

T1 = ukuran tumor \leq 2 cm

T1a = ukuran tumor lebih dari 0,1 cm dan tidak lebih dari 0,5 cm

T1b = ukuran tumor lebih dari 0,5 cm dan tidak lebih dari 1 cm

T1c = ukuran tumor lebih 1 cm dan tidak lebih dari 2 cm

T2 = ukuran tumor lebih dari 2 cm dan tidak lebih dari 5 cm

T3 = ukuran tumor lebih dari 5 cm

T4 = semua ukuran tumor dengan ekstensi ke dinding dada atau kulit

T4a = ekstensi ke dinding dada

T4b = edema (termasuk *peau d' orange*), atau ulserasi kulit payudara, atau satelit nodul pada payudara ipsilateral

T4c = T4a dan T4b

T4d = *inflammatory carcinoma*

N = limfonodi regional

Nx = limfonodi regional tak dapat diperiksa

N0 = tak ada metastase di limfonodi regional

N1 = metastase di limfonodi aksila ipsilateral *mobile*

N2 = metastase di limfonodi aksila ipsilateral *fixed*

N2a = metastase di limfonodi aksila ipsilateral *fixed* antar limfonodi atau fixed ke struktur jaringan sekitarnya

N2b = metastase di limfonodi mamaria interna

N3a = metastase di limfonodi infraclavícula ipsilateral

N3b = metastase di limfonodi mamaria interna dan aksila ipsilateral

N3c = metastase di limfonodi supraclavícula

M = metastase jauh

Mx = metastase jauh tak dapat diperiksa

M0 = tak ada metastase jauh

M1 = metastase jauh

2.1.4. Staging kanker payudara

Untuk memudahkan pengelolaan kanker payudara, maka dilakukan staging sebagai berikut : (*American Joint Committe on Cancer Staging and ENDResult Reporting 2002*)^{13,16}

Stadium 0	= Tis	N0	M0
Stadium I	= T1	N0	M0
Stadium IIA	= T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stadium IIB	= T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium III A	= T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1,N2	M0
Stadium III B	T4	N0,N1,N2	M0
Stadium III C	Setiap T	N3	M0
Stadium IV	Setiap T	Setiap N	M1

2.1.5 Karsinogenesis

Karsinogenesis atau onkogenesis atau tumorigenesis adalah suatu proses dimana sel normal mengalami transformasi menjadi sel kanker, ditandai dengan

perubahan di tingkat gen dan sel yang hasil akhirnya berupa reprogramisasi pembelahan sel yang tidak terkontrol, berujung terjadinya keganasan. Karsinogenesis disebabkan oleh mutasi DNA / material genetik dari sel normal sehingga merusak keseimbangan proliferasi dan apoptosis/ kematian sel.¹⁵

2.1.6 Pengaturan Replikasi Sel

Dalam kondisi normal, pembelahan, proliferasi dan diferensiasi sel dikontrol secara ketat. Terdapat keseimbangan antara proliferasi dan kematian sel, dan pembelahan seluler hanya diaktifkan bila sel mati atau kebutuhan fisiologik memerlukan lebih banyak sel jenis tertentu. Sistem sinyal interseluler khusus berfungsi meregulasi replikasi sel-sel seseorang dalam tubuh. Proliferasi sel sebagian besar dikontrol oleh faktor kimia dalam lingkungan, yang dapat meningkatkan pertumbuhan jaringan tertentu dan secara bersamaan menghambat pertumbuhan sel tertentu yang tidak diinginkan.¹⁶

Mekanisme sinyal sel yang memulai proliferasi sel dapat dibagi menjadi langkah-langkah sebagai berikut: (1) satu molekul, sering sebagai satu faktor pertumbuhan diaktifkan yang sebaliknya mengaktifkan beberapa protein transduser; (2) sinyal ditransmisikan melewati sitosol melalui *second messenger* menuju inti sel; (3) faktor transkripsi inti yang memulai pengaktifan transkripsi asam deoksiribonukleat.¹⁶

2.1.6.a Protoonkogen

Protoonkogen adalah gen normal yang berfungsi untuk mendorong dan meningkatkan pertumbuhan dan pembelahan sel, yang dapat berubah menjadi

onkogen bila terjadi mutasi atau peningkatan ekspresi gen. Gen tersebut ditunjukkan oleh tiga nama huruf seperti c-myc atau erb-B1. Sedangkan yang mengalami mutasi atau peningkatan ekspresi gen disebut onkogen dan memiliki kemungkinan yang besar untuk berkembang menjadi keganasan. Protoonkogen mengkode protein untuk proliferasi yang diaktifkan oleh reseptor dan jalur diferensiasi. Protoonkogen yang bermutasi menjadi onkogen (menghasilkan onkoprotein yang abnormal) akan mengaktifkan jalur yang seharusnya berhenti secara periodik tersebut menjadi terus-menerus / tidak berhenti.

Protoonkogen dapat diubah menjadi onkogen dengan empat mekanisme dasar: mutasi *point*, amplifikasi gen, pengaturan kembali kromosom, dan insersi genom virus.¹⁷

2.1.6.b Gen-gen supresor Tumor

Kebalikan dari protoonkogen, gen-gen supresor tumor menghambat pertumbuhan sel dan siklus pembelahan. Sel kanker bersifat autonom, yaitu tidak merespon terhadap sinyal pertumbuhan normal dan sinyal penghambat. Mutasi pada gen supresor tumor menyebabkan kerusakan komponen jaringan sinyal penghambat, menurunkan kerusakan dari siklus sel dan menyebabkan pertumbuhan yang tidak terkontrol.¹⁷

2.1.6.c Gen Rb

Gen Rb adalah gen supresor tumor yang pertama kali ditemukan. Kode gen Rb untuk protein pRb penting untuk mengontrol siklus sel pada titik

pemeriksaan G1-S disebut master brake. Perkembangan dalam siklus sel diperantai oleh berbagai siklin, yang dikombinasi dengan kinase bergantung siklin (CDK). Protein pRb dapat menghambat pembelahan sel dengan mengikat factor transkripsi, mencegahnya dari transkripsi factor pertumbuhan. Satu mutasi gen Rb yang tidak memindahkan salah satu dari kendali utama pembelahan sel.¹⁷

2.2 Aktifitas Proliferasi Sel

Secara fisiologis, sistem pertumbuhan sel dalam individu juga diatur oleh sistem keseimbangan yaitu apoptosis dan proliferasi. Apabila pada suatu individu terjadi apoptosis yang berlebihan, maka individu tersebut akan mengalami kemunduran fungsi dari suatu system organ yang dapat menimbulkan suatu penyakit. Demikian juga halnya bila terjadi proliferasi sel secara berlebihan, maka akan terjadi massa tumor (*malignancy*).¹⁸

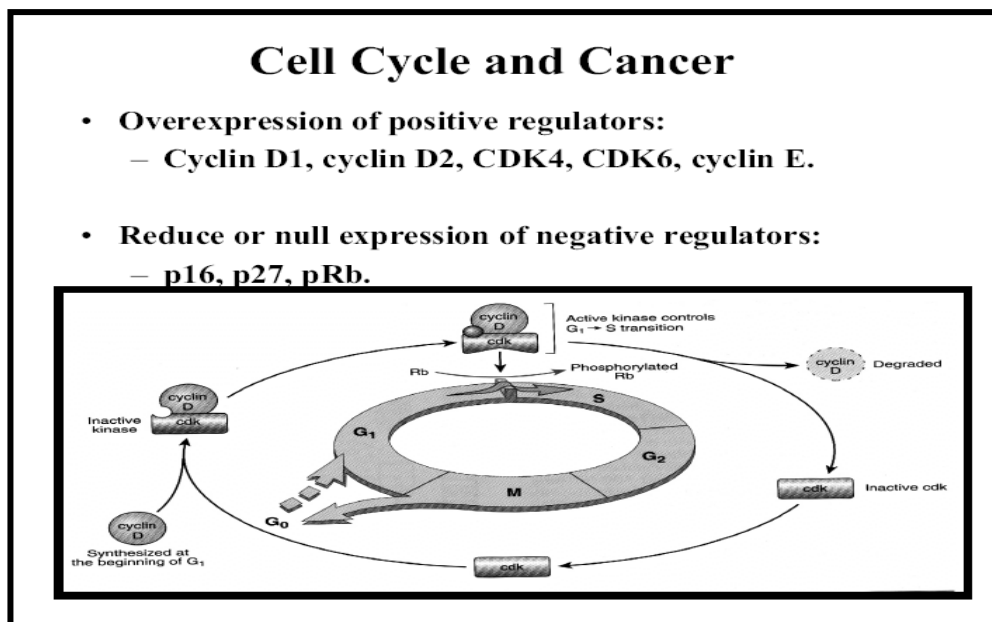
Pada jaringan normal jumlah sel yang berkembang biak adalah yang di butuhkan tubuh, Replikasi sel berjalan melalui jumlah fase biokimia dimulai dari stimuli external dan di modulasi oleh keduanya external dan internal kontrol pertumbuhan.¹⁸

Secara umum, jumlah sel yang ada pada suatu jaringan merupakan fungsi kumulatif antara masuknya sel baru dan keluarnya sel yang ada pada populasi. Masuknya sel baru ke dalam populasi jaringan sebagian besar ditentukan oleh kecepatan proliferasinya, sementara sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel ataupun karena berdiferensiasi menjadi jenis sel lain. Oleh karena

itu, meningkatnya jumlah sel dalam populasi tertentu dapat terjadi karena peningkatan proliferasi ataupun karena penurunan kematian atau diferensiasi sel.¹⁹

Siklus sel secara normal terbagi dalam empat fase, yaitu: G₁, S, G₂, M dan fase istirahat yaitu G₀.^{19,20}

Fase G₁, sel mempersiapkan untuk sintesa DNA, biosintesa RNA dan protein. Pada fase S, replikasi DNA. Akhir fase ini sel berisi DNA ganda dan kromosom mengalami replikasi. Setelah fase S berakhir kemudian sel masuk fase pra mitosis (G₂) mempunyai ciri : sel berbentuk tetraploid, DNA dua kali lebih banyak dari pada sel fase lain serta sintesis RNA dan protein masih berlangsung. Sewaktu mitosis berlangsung (fase M) sintesis protein dan RNA berkurang, dan terjadi pembelahan menjadi 2 sel. Sel kemudian memasuki fase istirahat (G₀). Pada fase G₀, sel masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klonogenik atau sel induk (*stem cell*). Jadi yang menambah jumlah sel kanker ialah sel yang dalam siklus proliferasi.¹⁹⁻²¹



Gambar 1. Siklus sel (Shengli, 2001).

Perubahan dari fase ke fase pada siklus sel diatur beberapa *checkpoint*. Fungsi kontrol *checkpoint* untuk memastikan kromosom utuh dan tahap-tahap kritis siklus sel sempurna sebelum memasuki tahap selanjutnya. Pengaturan *checkpoint* melibatkan aktivasi dan degradasi *cyclin*, aktivasi *cyclin dependent kinase* (CDK), *cyclin-dependent kinase inhibitor* (CDKI). Interaksi diantara peran ketiga kelas protein tersebut adalah mengontrol tahap siklus sel, mencegah sel ke tahap selanjutnya jika terjadi kerusakan DNA melalui mekanisme *checkpoint* dan deregulasi proses ini berperan dalam kejadian karsinoma.^{29,30}

Sel neoplasma ialah sel tubuh yang mengalami transformasi sehingga sifat dan kinetiknya berubah serta tumbuhnya autonom dan liar tidak terkendali dan terlepas dari sel normal.³¹ Perubahan yang terjadi pada awal progresifitas sel normal menjadi sel kanker adalah peningkatan proliferasi sel.³² Progresifitas sel neoplastik merupakan cermin dari sifat dan perangai sel yang telah berubah menjadi maligna. Sel sel kanker yang tumbuh berlebihan terjadi akibat proses aktifitas proliferasi sel yang berlebih-lebihan.³³ Kenaikan aktifitas proliferasi pada jaringan yang terinisiasi adalah perubahan yang sangat penting pada stadium awal dari promosi tumor yang merupakan tanda khas lesi prakanker.³⁶

Proliferasi sel dikendalikan oleh CDK2 yang berkaitan dengan Cyclin E dan Cyclin A yang mengatur transisi G1 / S dan fase perkembangan S.³⁵ Cyclin-dependent kinase (Cdk), berfungsi untuk mengaktifkan dan mematikan protein tertentu pada siklus sel. Cyclin E berkaitan dengan Cdk membentuk G1/S-Cdk, Cyclin A dibuat dalam fase S, juga mengikat CDK2, membentuk S-Cdk

yang diperlukan untuk sintesis DNA. Dua kelas utama pada reseptor permukaan protein pada semua sel : keluarga reseptor berikatan protein G dan keluarga reseptor berikatan enzyme. Kelas ini termasuk yang berikatan dengan protein kinase yang di bagi 2 subgrup yaitu reseptor tyrosinkinase (RTKs) dan reseptor theronine kinases. Epidermal growth factor (EGF) termasuk keluarga ErbB dari RTK. EGF berfungsi mengikat domain ekstraselular reseptor EGF. Salah satu protein yang mengikat residu phosphotyrosine di reseptor EGF adalah protein yang disebut adapter Grb2. Grb2, pada gilirannya, merekrut protein yang disebut Sos. Dengan demikian pengikatan EGF pada reseptor EGF merekrut Grb2 dan Sos ke bagian intraseluler dari reseptor. Sos adalah guanine nucleotide exchange faktor (GEF). Bekerja pada monomeric GTP binding protein, Ras. Ras protein terletak dalam permukaan membran plasma. Ikatan Ras aktif akan mengaktifasi protein kinase yang dinamakan Raf dan aktifasi protein kinase lain yang dinamakan MEK (MAP kinase). MEK pada gilirannya memphosphorilasi dan mengaktifkan MAP kinase, ikatan phosphorilase ini dinamakan MAP kinase cascade. MAP kinase phosphorylase faktor transkripsi gen spesifik dalam inti sel yang mengikat promotor gen dan meningkatkan proliferasi sel.³⁶

2.2.1 Apoptosis

Apoptosis adalah suatu kematian sel yang terprogram atau programmed cell death.²² Banyak stimulasi yang dapat menginduksi apoptosis. Stimulasi utama adalah agent kemoterapi ,ultraviolet/radiasi, panas, *osmotic imbalance*, dan *Nitric Oxide*. Menurut jenis triger dan tipe selnya, ada banyak jalur signal

untuk mengaktifasi apoptosis. Apoptosis yang diinduksi oleh CTL dan sel-NK yang diinduksi baik oleh *nonsecretory induced*, *ligand -induced*, dan *secretory induced* dengan granzyme melalui perantara sekresi perforin.

Kerusakan DNA dipicu oleh enzim caspase aktif dimana caspase ini merupakan suatu molekul protein 10 dan 20 kD berupa protease cystein. Protein target dari caspase adalah protein *DNA repair system* [seperti (ADP-ribose)-polymerase], protein struktural/sitoskeletal (seperti lamin, actin, cytokeratin, dll) , dan onkoprotein (terutama Rb protein). Caspase akan mengaktifkan DNAase yang menyebabkan kerusakan DNA selama apoptosis. Sehingga yang akan terjadi adalah melisutnya organel dan inti sel.^{14,22} Caspase (terutama caspase 8 dan 10) dapat diaktifkan oleh granzyme maupun suatu katalisator protease yaitu FLICE (FADD-Like IL-1 Converting Enzyme) yang berikatan oleh 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 Fas reseptor seperti polyphenol yang terkandung dalam *tanaman obat*.²³⁻²⁵

Aktifasi *secretory induce* caspase dilakukan oleh CTL dan sel-NK oleh granula sitotoksiknya yang berisi protein pore-forming perforin (cytolysin) dan enzim famili dari serine protease yang bernama granzyme sebagai senjata dari CTL/sel-NK.^{25,26}

2.2.2 Cyclooxygenase (COX)

Sejak tahun 1990-an kita mengenal 2 macam enzim COX, yaitu COX-1 dan COX-2. Kedua isoform ini berbeda distribusinya pada jaringan dan juga memiliki fungsi regulasi yang berbeda COX -1 diekspresikan secara konstitutif pada kebanyakan jaringan dan sel kecuali sel – sel darah merah. Hal ini diyakini sebagai gen penjaga yang terutama bertanggung jawab untuk sintesis PG yang mengontrol fungsi fisiologi normal seperti pemeliharaan mukosa gaster, agregasi pletelet, dan pengaturan aliran darah ke renal. Di lain pihak, COX -2 adalah suatu respon gen awal – segera yang dapat diinduksi yang tidak dapat dideteksi pada kebanyakan jaringan normal tetapi diinduksi oleh berbagai sitokin, faktor – faktor pertumbuhan, hormon – hormon, dan pemicu – pemicu tumor. Pada tingkat seluler, kedua enzim COX diekspresikan didalam retikulum endoplasma dan selubung inti sel. Baru – baru ini, varian COX yang baru, diidentifikasi dan disusun, COX-3 memiliki struktur yang sama dengan COX-1, kecuali bahwa mRNA-nya mengandung intron-1, yang juga ditranslasikan menjadi protein sepanjang 30 asam amino. Dengan demikian, COX-3 adalah varian pembelahan dari COX-1.⁵⁵

Tabel 2.1. Ciri gen-gen COX-1 dan COX-2 manusia dan produk-produk gennya

Ciri – ciri	COX-1	COX-2
Lokasi kromosom	Kromosom 9	Kromosom 1
Ukuran gen	22 kb	8.3 kb
Jumlah ekson	11	10
Jumlah intron	10	9
Ukuran mRNA	2.7 kb	4.5 kb
Pengaturan	Konstitutif	Dapat diinduksi

Berat molekul	72 kDa	72 kDA
Lokasi subselular	Retikulum endoplasma dan selubung inti sel	Retikulum endoplasma dan selubung inti sel

Menurut Davies *et al.* (2002) mekanisme aksi utama senyawa/obat yang mempunyai efek antiinflamasi adalah melalui penghambatan enzim siklooksigenase (COX). Enzim siklooksigenase (*cyclooxygenase*) yang juga disebut sebagai *prostaglandins endoxyperoxide synthase* merupakan katalisator pada perubahan asam arachidonat menjadi *prostaglandin endoxyperoxide* (prostaglandin H₂). Dua isoform dari *prostaglandin synthase* yang telah diidentifikasi adalah COX-1 dan COX-2. COX-1 diekspresikan pada sebagian besar jaringan dan diperkirakan terlibat pada proses homeostasis seluler, sedang COX-2 sering tidak terdeteksi pada jaringan yang normal tetapi akan muncul dengan cepat sebagai respon pada berbagai macam stimuli termasuk mitogen, hormon, sitokin, dan faktor faktor pertumbuhan.⁴⁷

Ekspresi yang berlebihan dari COX-2 dan konsentrasi yang tinggi dari prostaglandin dihubungkan dengan penyakit inflamasi kronik seperti *rheumatoid arthritis*, dan beberapa kanker pada manusia termasuk kanker kolon, paru, kandung kemih, prostat, lambung dan kanker payudara. Selama perjalanan kanker, prostaglandin dapat memperantarai beberapa mekanisme seperti proliferasi sel, apoptosis, modulasi sistem imun dan angiogenesis. Pada proses fisiologis, angiogenesis memegang peranan penting pada siklus reproduksi wanita (menstruasi, ovulasi), dan pada pertumbuhan dan perbaikan jaringan. Dalam keadaan inflamasi kronis pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis)

memegang peranan menahan laju inflamasi dengan mengangkut sel sel inflamasi, oksigen dan nutrien ke jaringan yang mengalami inflamasi tersebut. Selama pembentukan tumor, angiogenesis ini merupakan faktor yang penting pada pertumbuhan dan metastase tumor tersebut.⁴⁶

COX-2 adalah enzim dalam bentuk inducibel, dan tidak terdeteksi dalam semua jaringan normal, akan tetapi COX-2 terinduksi oleh berbagai macam inflamasi dan stimulus mitogenik.⁴⁹ Onkogen, Growth faktor (EGF), PDGF, (IL)1B, IL2 dan TNF, Cytokines, Chemoterapeutik, tumor promotor merupakan stimulus-stimulus yang menginduksi ekspresi dari COX-2 (Chen CC et al., 2001, Dempke W et al., 2001, Zhang Fet al., 1998). COX-2 meningkat pada banyak keganasan, seperti pada organ colon,paru, mamma, prostat, kandung kemih, abdomen dan esophagus, sehingga diduga COX-2 berperan dalam promosi, dan progresi dari tumor.⁴⁶

COX-2 adalah enzim yang berperan dalam mengubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin. Produk akhir dari COX-2 inilah yang berkontribusi terhadap berbagai factor biologis dalam memicu pertumbuhan tumor. COX-2 akan menginduksi terjadinya angiogenesis melalui 3 produk dari metabolisme arakhidonik yaitu : TXA2, PGI2 dan PGE2 yang merangsang VEGF untuk membentuk pembuluh darah baru.⁴⁹ Disamping itu COX-2 juga berperan sebagai immunosuppressan yang menyebabkan penurunan aktivitas sitotoksik dari NK sel , COX-2 juga menghambat terjadinya apoptosis, serta meningkatkan aktivitas dari MMPs sehingga resiko tumorigenesis meningkat dan menyebabkan invasi serta

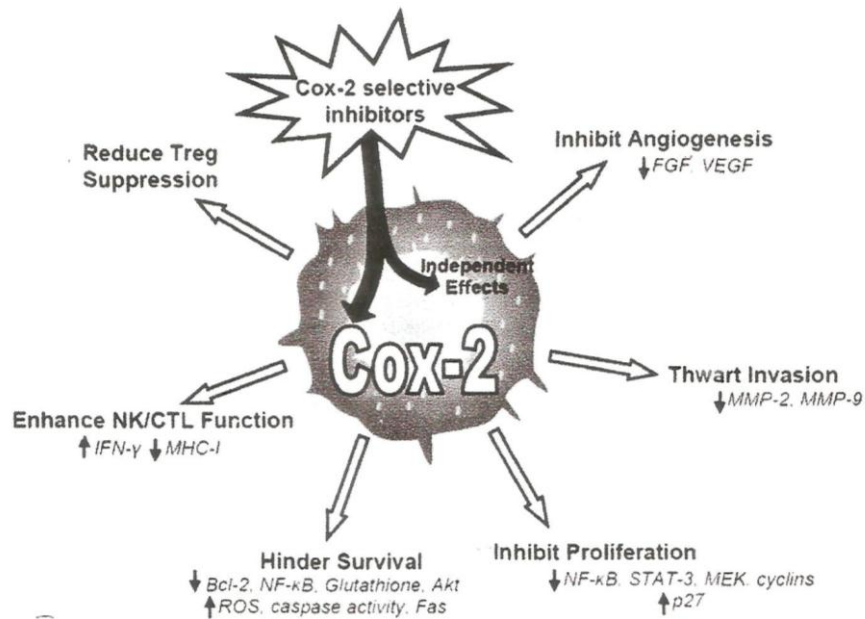
metastasis tumor. Dengan mengetahui peranan COX-2 dalam karsinogenesis sel tumor inilah maka penting untuk mengetahui ekspresinya dalam sel tumor.⁵⁰

Mempertahankan ekspresi COX-2 akan menghasilkan rangsangan untuk pembentukan angiogenesis. Pada model karsinogenesis pada kanker payudara, adanya data overekspresi COX-2 saja mendorong terjadinya kanker payudara. Hal yang sama juga terjadi pada malignancy pada kulit dari lesi yang hiperplasia, kan berubah menjadi malignancy. Banyak penelitian yang mendukung bahwa pemberian kemoprevensi dengan inhibitor COX-2 digunakan pada pencegahan kanker yang berasal dari epitel.^{47,51}

2.2.2.1 Pengaruh Cox-2 pada Sel Tumor

Pada penelitian terbaru, ditemukan bahwa *Cox-2* memiliki peran sentral dalam karsinogenesis. *Cox-2* terdapat dalam jumlah yang tinggi pada berbagai macam sel kanker termasuk kanker payudara, prostat, colon, paru dan keganasan hematologi.

Peningkatan *Cox-2* berhubungan dengan respon terapi yang buruk dan penurunan angka survival. Penelitian pada tikus, defisiensi *Cox-2* menyebabkan resistensi tikus terhadap beberapa jenis kanker. Sebaliknya peningkatan ekspresi *Cox-2* menyebabkan terjadi karsinogenesis secara spontan. Hal ini menunjukkan bahwa *Cox-2* berperan sebagai onkogen dan mempunyai peranan penting dalam patogenesis kanker.⁵⁴



Gambar 2. Pengaruh pemberian COX-2 inhibitor pada sel tumor. Dikutip dari Bernard.

Eksresi *Cox-2* memicu terjadinya keganasan, meningkatkan angiogenesis dan metastasis, menstimulasi fungsi sel T Reg, mempengaruhi aktivitas sel-sel dengan fungsi sitotoksik (sel NK dan CTL), dan meningkatkan proliferasi sel ganas.

Beberapa penelitian *Cox-2* inhibitor selektif *in vitro* menunjukkan bahwa proliferasi dan kelangsungan hidup sel ganas pada keganasan hematologi tergantung pada aktivitas *Cox-2*.

Isoform dari COX (*Cox-2*) seringkali diekspresikan dalam metastasis kanker payudara yang agresif dan mungkin memiliki sebuah peran yang penting dalam perkembangan kanker (sebagai contoh, pertumbuhan kanker dan metastasis).

Kanker payudara, ekspresi dari gen *Cox-2* dihubungkan dengan tingginya derajat tumor, yang menunjukkan bahwa *Cox-2* dapat dijadikan sebagai biomarker prognostik untuk keberadaan kanker payudara. Walaupun begitu, mekanisme pasti untuk metastasis yang diinduksi oleh *Cox-2* belum dijelaskan dengan baik. Salah satu hasil langsung dari aksi *Cox-2* adalah meningkatkan produksi prostaglandin, khususnya prostaglandin E2 (PGE2).⁵⁴

Sel yang mengekspresikan berlebih *Cox-2* (MCF-7/COX-2), yang dihasilkan oleh transfecting *Cox-2-encoding* plasmid ke dalam sel kanker payudara MCF-7 yang kurang invasif menyebabkan sel kanker lebih invasif dan menghasilkan kadar IL-8 yang lebih tinggi daripada sel parental.

Sejumlah penelitian telah menunjukkan kadar tinggi protein *Cox-2* pada tumor padat. Pada kanker payudara, ekspresi *Cox-2* merupakan prediktor buruknya (kemungkinan) bebas penyakit dan kelangsungan hidup secara keseluruhan dan telah terlibat sebagai penanda potensi metastatik yang tinggi. *Cox-2* meningkatkan invasi sel-sel kanker payudara secara *in vitro* dan *in vivo*.

Meskipun banyak bukti yang menunjukkan peran *Cox-2* dalam invasi dan metastasis kanker payudara, mekanisme yang terlibat tidak didefinisikan dengan baik.

Kadar tinggi *Cox-2* telah dihubungkan dengan peningkatan ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular, pro-urokinase type plasminogen activator (Pro-uPA, interleukin-11, dan interleukin-8 (*IL-8*) pada sel kanker payudara.

Dari penelitian Ann-Marie Simeone dkk, *Cox-2* menggunakan protein kinase C (PKC) untuk meningkatkan produksi *IL-8*. *Cox-2* menggunakan *IL-8* untuk mengaktifkan uPA, sehingga meningkatkan invasi sel kanker payudara.⁵³

2.2.2.2 COX-2 meningkatkan invasi sel kanker payudara

Cox-2 mampu meningkatkan kemampuan invasi sel *MCF-7* kanker payudara secara *in vitro*. Untuk mengkonfirmasi bahwa *Cox-2* meningkatkan kemampuan invasi sel *MCF-7* kanker payudara, satu klon sel *MCF-7 /Cox-2* dibandingkan aktivitas invasif sel-selnya ini dengan yang ada pada sel *MCF-7* parental. Sel *MCF-7* menampilkan kapasitas invasif yang rendah pada Matrigel.⁵³

Sel *MCF-7/COX-2* lebih invasif daripada sel parental. Jumlah sel *MCF-7* yang menginvasi meningkat, dengan adanya over-ekspresi *Cox-2*.

2.3 Ekstrak Kencur (*Kaempferia galangal L*)

2.3.1 Definisi

Kencur (*Kaempferia galanga L.*) adalah salah satu jenis tanaman obat yang tergolong dalam suku temu-temuan (*Zingiberaceae*). Selain dikenal sebagai tanaman yang dimanfaatkan sebagai bumbu dapur, kencur juga dikenal sebagai tanaman obat yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit karena khasiatnya sebagai ekspektoransia, diuretika, dan stimulansia. Kencur juga dapat mengobati batuk, radang lambung, bengkak, muntah-muntah, tetanus, nyeri, sakit kepala, memperlancar haid dan influenza.¹⁰

Kencur juga merupakan obat herbal yang memiliki efek sebagai antiinflamasi. Efek kencur sebagai antiinflamasi dengan menghambat produksi dari mediator-mediator inflamasi.¹⁰

Taksonomi⁴⁰ :

Kerajaan : *Plantae*, Divisi : *Spermatophia*, Sub Devisi: *Angiospermae*, Kelas : *Monocothyledoneae*, Bangsa : *Zingiberales*, Suku : *Zingiberaceae*, Marga : *Kaempferia*, Jenis : *Kaempferia galangal L*

2.3.2 Morfologi Tanaman



Gambar 3: Kencur (*Kaempferia galangal L*)^{37,39}

. Tanaman kencur memiliki batang semu yang sangat pendek dan tumbuh merumpun. Batang tersebut terbentuk dari pelepah-pelepah daun yang saling menutupi. Daun-daunnya tumbuh tunggal, melebar dan mendatar atau menurun mendekati permukaan tanah dengan ujung mengecil. Bentuknya lonjong, lebar 3-6 cm dan panjang 7-12 cm. Warna daun adalah hijau segar dan bertekstur agak tebal. Tangkai daun amat pendek dan bewarna keputihan.⁴⁰

Bunga kencur keluar dalam bentuk buliran dari ujung tanaman di sela-sela daun. Warna bunganya putih, ungu hingga lembayung. Buah kencur termasuk

buah kotak yang memiliki 3 ruang dengan bakal buah yang letaknya tenggelam. Namun buah kencur sulit menghasilkan biji.⁴⁰

Akar kencur merupakan akar tunggal yang bercabang halus dan menempel pada umbi akar atau yang biasa disebut rimpang. Rimpang ini tumbuh memanjang ke bawah, berdiameter sampai 1,5 cm dan tidak berserat. Rimpang kencur memiliki bentuk bulat dan memanjang. Rimpang kencur yang masih muda, umumnya berwarna putih, namun seiring dengan perkembangan umur, warna putih tersebut secara berangsur-angsur akan berubah menjadi kuning atau kecokelat-cokelatan. Kulit rimpang berwarna coklat tua mengilap. Aroma rimpang kencur sangat khas dan lembut. Pada penelitian ini digunakan rimpang kencur.⁴⁰

2.3.3 Kandungan Kimia

Senyawa kimia yang dikandung dalam rimpang kencur antara lain *cineol*, *borneol*, *3-carene*, *camphene*, *kaempferol*, *kaempferide*, *cinnamaldehyde*, *p-methoxycinnamate*, *ethylcinnamate*, *α-pinene*, *carvone*, *benzene*, *eucalyptol*, *pentadecane*, *β-phyllandrene*, *α-terpineol* dan *dihydro β-sesquiphyllandrene*.⁴¹

Kandungan minyak atsiri dari rimpang kencur diantaranya terdiri atas :

Tabel 2.2. Kandungan kimia kencur (Sukari dkk., 2008).⁵²

etil p-metoksisinamat	58,47%,
isobutil β-2-furilakrilat	30,90%,
heksil format	4,78%
monoterpen teroksigenasi	
• borneol	0,03%
• kamfer hidrat	0,83%
serta monoterpen hidrokarbon	
• kamfen	0,04%
• terpinolen	0,02%

Kencur yang sudah di ekstraksi dengan etanol yang kemudian diidentifikasi akan ditemukan kandungan p-methoxycinnamate. p-methoxycinnamate memiliki potensi menghambat sintesa prostaglandin yang merupakan mediator utama dari inflamasi. Penghambatan sintesis prostaglandin dengan cara menghambat kerja siklooksigenase (COX) yang berfungsi merubah asam arakhidonat menjadi prostaglandin bila terjadi radang.¹⁰

Zat kimia pada rimpang kencur yang lain bersifat antiinflamasi adalah kaempferol. Selain sebagai antioksidan dan antikanker, kaempferol juga mempunyai kemampuan menghambat proses inflamasi dengan cara menghambat ekspresi enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2).⁴¹

2.3.4 Distribusi

Kencur dapat tumbuh hampir diseluruh Indonesia. Kencur merupakan temu kecil yang tumbuh subur di daerah dataran rendah atau pegunungan yang tanahnya gembur dan tidak terlalu banyak air.³⁸

Iklim yang cocok untuk tanaman kencur dipengaruhi oleh beberapa factor. Kencur dapat tumbuh pada ketinggian 50 – 600 m di atas permukaan laut dengan intensitas cahaya sedikit terlindung dari sinar matahari langsung dan curah hujan berkisar 2.500 – 4.000 mm/ tahun. Kencur berkembang baik jika ditanam pada jenis tanah lempung berpasir dan lempung berliat dengan struktur tanah yang remah dan kaya humus. Suhu udara yang ideal adalah 26 – 30 °C dengan tingkat naungan 0 – 30 %.³⁸

2.4 Hewan Coba

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit strain C3H.

Adapun taksonominya menurut Sharp (1998) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*, Phylum : *Chordata*, Class : *Mammalia*, Ordo : *Rodentia*

Subordo : *Myomorpha*, Family : *Muridae*, Genus : *Mus*,

Species : *Mus musculus*, Strain : *Mus musculus strain C3H*

Mencit C3H merupakan hasil inbreeding mencit strain Agouti. Strain C3H dikembangkan oleh Strong pada tahun 1920 dari perkawinan silang mencit Bagg albino dan DBA jantan dengan seleksi yang mempunyai insidensi tinggi tumor payudara. Substrain yang tidak disapih mempunyai insidensi tumor payudara yang tinggi. Mencit ini rentan terhadap virus tumor payudara yang dibawa dalam bentuk aktif dalam substrain yang tidak disapih. Virus tumor payudara mencit (*murine mammary tumor virus/MuMTV*) diketahui sebagai agen etiologik kanker payudara mencit spontan pada beberapa strain mencit yang ditularkan lewat air susu. Mencit C3H menunjukkan titer tinggi MuMTV dalam air susunya, dan kira-kira 90% keturunan C3H yang disusui induk C3H mengembangkan tumor payudara antara umur tujuh dan sepuluh bulan. Menyapih bayi-bayi mencit atau mentransfer sel telur yang telah difertilisasi ke strain yang bebas virus tumor payudara mengeliminasi virus pada keturunan mencit tersebut dan secara substansial mengurangi insidensi kanker payudara dan perkembangan kanker payudara terjadi lebih lambat. Tumor payudara yang lambat terjadinya ini diperkirakan hasil dari aktivasi MuMTV endogen. MuMTV endogen diekspresikan pada mencit C3H sejalan dengan meningkatnya usia dan jumlah

paritas. Gen dominan tunggal, MTV-1, yang berada pada kromosom 7 mencit, bertanggungjawab terhadap ekspresi antigen viral MuMTV dalam air susu mencit C3H dan meningkatnya insidensi perkembangan tumor payudara. Semua substrain perkawinan dalam (*inbred*) mencit mengandung provirus MuMTV endogen yang mekanisme belum diketahui. Mencit ini juga direkomendasikan sebagai model untuk skrining obat anti kanker potensial.²⁹

2.5 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kencur Terhadap Aktifitas Proliferasi

Adenocarcinoma Mammariae

Kanker payudara adalah pertumbuhan sel payudara yang tidak terkontrol lantaran perubahan abnormal dari gen yang bertanggung jawab atas pengaturan pertumbuhan sel. Secara normal, sel payudara yang tua akan mati, lalu digantikan oleh sel baru yang lebih ampuh. Regenerasi sel seperti ini berguna untuk mempertahankan fungsi payudara. Pada kasus kanker payudara, gen yang bertanggung jawab terhadap pengaturan pertumbuhan sel termutasi. Kondisi itulah yang disebut kanker payudara.³⁰

Masuknya sel baru ke dalam populasi jaringan sebagian besar ditentukan oleh kecepatan proliferasinya, sementara sel dapat meninggalkan populasinya karena kematian sel ataupun karena berdiferensiasi menjadi sel lain. Oleh karena itu, meningkatnya jumlah sel dalam populasi tertentu dapat terjadi karena peningkatan proliferasi ataupun karena penurunan kematian atau diferensiasi sel. Sel yang sedang berproliferasi berkembang melalui serangkaian tempat dan fase yang sudah ditentukan yang disebut siklus sel. Siklus sel tersebut terdiri atas fase

pertumbuhan prasintesis 1 atau G1; fase sintesis DNA atau S; fase pertumbuhan pramitosis 2 atau G2; fase mitosis atau M. Sel istirahat berada dalam keadaan fisiologis yang disebut dengan G0. Dengan mengecualikan jaringan yang terutama tersusun atas sel yang mengalami diferensiasi tahap akhir dan tidak membelah, yang semuanya berada dalam G0, sebagian besar jaringan yang matur terdiri atas sel dalam suatu kombinasi dari berbagai keadaan.¹⁸