

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker payudara

2.1.1 Definisi

Pertumbuhan sel yang terjadi secara abnormal dan tidak terkontrol pada jaringan payudara.²⁹ *World Health Organization* (WHO) mengklasifikasikan kanker payudara sebagai berikut.³⁰

1) Lesi prekursor

Lesi prekursor dari kanker payudara terdiri dari *ductal carcinoma in situ* (DCIS) dan *lobular neoplasia*. *Lobular neoplasia* terbagi menjadi *classic lobular carcinoma in situ* (LCIS) dan *pleomorphic lobular carcinoma in situ* (PLCIS).

2) Karsinoma invasif

Subtipe spesifik yang paling umum dari karsinoma payudara invasif meliputi karsinoma lobular invasif, karsinoma tubular, karsinoma metaplastik, karsinoma apokrin, karsinoma musinosum, dan karsinoma papiler. Karsinoma payudara invasif yang tidak memiliki ciri pembeda spesifik yang menjadi pola khusus subtipe spesifik kanker payudara invasif lainnya dikelompokkan sebagai *invasive carcinoma of no special type* (NST). Pada kanker payudara invasif yang memiliki pola khusus setidaknya 50% dan pola non-khusus di antara 10% dan 49% disebut sebagai *mixed invasive NST and special type*.

2.1.2 Faktor risiko

2.1.2.1 Usia

Kanker payudara pada wanita paling sering ditemukan di sekitar usia menopause.⁷ Data *Surveillance, Epidemiology, and End Results* (SEER) menyatakan 1 dari 8 wanita di Amerika Serikat memiliki kemungkinan untuk menderita kanker payudara. Kasus kanker payudara diperkirakan terjadi pada 1 dari 202 wanita dari kelahiran sampai usia 39 tahun; 1 dari 26 wanita pada usia 40-59 tahun; dan 1 dari 28 wanita pada usia 60-69 tahun.³¹

2.1.2.2 Riwayat keluarga

Wanita dengan riwayat keluarga kanker payudara yang signifikan memiliki risiko yang lebih tinggi terkena kanker payudara. Riwayat keluarga kanker payudara yang signifikan yaitu dua atau lebih kanker payudara di bawah usia 50 tahun, atau tiga atau lebih kanker payudara pada usia berapapun. Wanita dengan riwayat keluarga kanker payudara yang signifikan dan tidak mengalami mutasi gen BRCA memiliki risiko kira-kira empat kali lipat menderita kanker payudara.³²

2.1.2.3 Genetik

Mutasi genetik menjadi salah satu faktor risiko kanker payudara pada wanita walaupun 85% kasus kanker payudara tidak berhubungan dengan faktor genetik. BRCA1 dan BRCA2 merupakan *tumor suppressor genes*. Wanita dengan mutasi gen BRCA1 atau BRCA2 memiliki risiko lebih tinggi terkena kanker payudara. Wanita dengan mutasi gen BRCA1 memiliki risiko antara 65% sampai 81% untuk

menderita kanker payudara. Wanita dengan mutasi gen BRCA2 memiliki risiko antara 45% sampai 85%.³¹

2.1.2.4 Menarche dini

Menarche dini dikaitkan dengan periode paparan aktivitas estrogen lebih lama. Risiko terjadinya kanker payudara berkurang hingga 10% setiap penundaan menarche selama 2 tahun. Dalam setiap siklus haid ekspresi estrogen ditemukan lebih tinggi pada wanita yang menarche sebelum usia 12 tahun dibanding wanita yang menarche setelah usia 13 tahun.⁷

Kadar estrogen yang tinggi dan kumulatif dalam tubuh merupakan faktor risiko terjadinya kanker payudara. Estrogen akan dimetabolisme oleh sitokrom P450 (CYP). CYP1B1 mengatalisis proses hidroksilasi estrogen menjadi 4-hidroksiestradiol.³³ Senyawa 4-hidroksiestradiol diduga merupakan senyawa metabolit estrogen yang bersifat karsinogenik.³⁴

2.1.2.5 Riwayat reproduksi

Kehamilan dikaitkan dengan risiko yang lebih rendah terhadap kejadian kanker payudara. Kehamilan akan mengurangi jumlah siklus menstruasi wanita dan juga mengurangi paparan hormon endogen. Kehamilan dianggap memiliki nilai proteksi untuk terjadinya kanker payudara pada wanita. Wanita yang pernah mengalami kehamilan memiliki risiko kanker payudara lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak pernah mengalami kehamilan.⁷

2.1.2.6 Obesitas

Obesitas dikaitkan dengan peningkatan risiko kebanyakan kanker termasuk kanker payudara. Obesitas pada wanita yang didiagnosis menderita kanker payudara meningkatkan sekitar 30% risiko kekambuhan dibandingkan wanita dengan berat badan normal. Obesitas juga dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker payudara pada wanita pascamenopause. Sel lemak akan memproduksi hormone estrogen. Hal ini menyebabkan kadar estrogen pada wanita pascamenopause yang mengalami obesitas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok wanita dengan berat badan normal.³⁵

2.1.2.7 Konsumsi alkohol

Konsumsi alkohol dikaitkan dengan perkiraan 30-50% peningkatan risiko kanker payudara. Alkohol diduga mengubah tingkat estrogen yang dapat menyebabkan perubahan kepadatan payudara. Kepadatan payudara yang lebih tinggi memberikan peningkatan risiko kanker payudara sebesar 4-6 kali lipat.³⁶

2.1.2.8 Terapi penggantian hormonal

Kontrasepsi hormonal diduga berhubungan dengan risiko kanker payudara. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa penggunaan kontrasepsi hormonal oral meningkatkan risiko kanker payudara sebesar 24% dibandingkan wanita yang tidak pernah menggunakannya. Lama penggunaan terapi hormonal juga dikaitkan dengan peningkatan risiko kanker payudara. Risiko kanker payudara meningkat

15% setelah penggunaan terapi hormonal selama 5 tahun dan menjadi 34% setelah 10 tahun.⁷

2.1.2.9 Gaya hidup

Aktivitas fisik yang rutin dapat mengurangi risiko kanker payudara. Berbagai mekanisme bertanggung jawab atas efek perlindungan pada risiko kanker payudara dan kekambuhan dengan melakukan aktivitas fisik rutin. Efek perlindungan terhadap kanker payudara kemungkinan terjadi melalui perubahan kadar hormon seks dan fungsi kekebalan tubuh.³⁷

Berbagai macam makanan yang dikonsumsi juga berhubungan dengan terjadinya kanker payudara. Daging atau ikan yang dimasak dengan cara dipanggang diduga memicu terjadinya kanker. Daging atau ikan panggang mengandung senyawa *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) yang dianggap sebagai bahan karsinogen. Jumlah senyawa PAH yang masuk dalam tubuh meningkat seiring dengan seringnya mengonsumsi daging atau ikan panggang. Senyawa PAH yang masuk dalam tubuh akan disimpan dalam jaringan lemak. Jaringan payudara tersusun dari jaringan lemak oleh karena itu payudara sangat rentan terhadap karsinogen aromatik.^{11 38}

2.2 DMBA

7, 12-Dimethylbenz[*a*]anthracene (DMBA) adalah anggota *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH). DMBA merupakan bahan kimia yang memiliki sifat sitotoksik, mutagenik, karsinogenik, dan immunosupresif.¹⁰ Pembakaran yang tidak sempurna dari bahan bakar fosil menjadi salah satu penyebab timbulnya senyawa PAH. PAH merupakan senyawa karsinogen bagi manusia.¹¹ Pembentukan spesies oksigen reaktif seperti peroksida dan radikal anion superoksida dalam aktivasi enzimatik PAH akan menginduksi timbulnya stres oksidatif. Keadaan stress oksidatif menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid³⁹

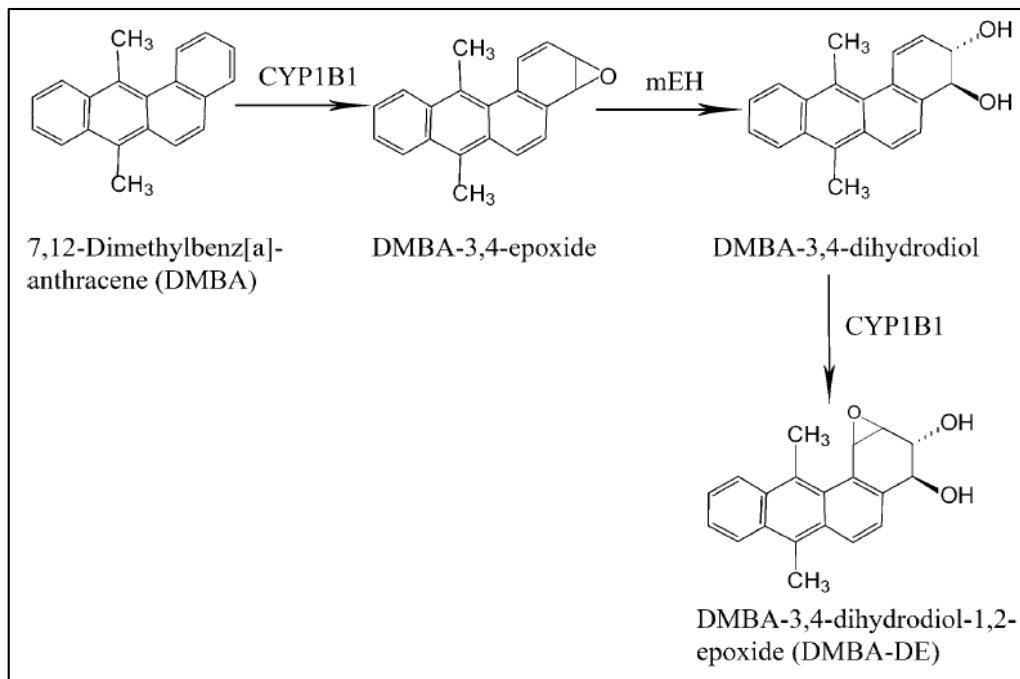
2.2.1 Hubungan DMBA dengan kanker payudara

Senyawa PAH seperti DMBA dapat dipendam dalam jaringan lemak. Jaringan payudara sebagian besar tersusun dari jaringan lemak. Sel-sel lemak dapat menyimpan dan mengonsentrasikan karsinogen aromatik. Hal ini menyebabkan payudara menjadi sangat rentan terhadap karsinogenesis akibat PAH.¹¹

Karsinogen jenis DMBA telah sering digunakan untuk menginduksi terjadinya kanker payudara pada tikus. Pemberian induksi DMBA paling efektif pada usia tikus 5 minggu.⁴⁰ Pemberian DMBA dengan dosis 20mg/kgBB yang dilakukan 2 kali seminggu selama 5 minggu terbukti dapat menginduksi terjadinya kanker payudara. Meiyanto melaporkan kanker payudara timbul pada minggu ke 12.⁴¹

2.2.2 Aktivasi metabolit DMBA

Aktivasi metabolit DMBA memproduksi karsinogen pokok yaitu *dihydrodiol epoxide*. *Dihydrodiol epoxide* menginduksi kerusakan DNA sehingga menyebabkan transformasi neoplastik.¹⁰ DMBA juga membentuk *reactive oxygen species* (ROS). ROS dapat dengan mudah bereaksi dengan membrane lipid menyebabkan perubahan permeabilitas membran. Reaksi antara ROS dengan DNA menyebabkan kerusakan dan ketidakstabilan genomik.⁴²



Gambar 1. Jalur metabolisme untuk bioaktivasi DMBA.¹⁰

Aktivasi metabolik diperlukan oleh senyawa PAH seperti DMBA.¹⁰ PAH yang tertelan atau terhirup dimetabolisme menjadi turunan yang larut dalam air melalui aktivasi oksidatif terutama oleh enzim sitokrom P-450 CYP1B1.⁴³ Enzim utama lain yang bertanggung jawab untuk bioaktivasi DMBA adalah *microsomal*

epoxide hydrolase (mEH). *Epoxide hydrolases* (EHs) adalah kelompok enzim yang berfungsi untuk mengubah epoksida sederhana menjadi diol visinal dan hidrokarbon aromatik menjadi trans-dihidrodiol.¹⁰

DMBA akan diubah menjadi DMBA-3,4-epoksida oleh CYP1B1. Substrat epoksida pertama (DMBA-3,4-epoksida) yang dihasilkan oleh CYP1B1 kemudian akan diubah dengan bantuan enzim *microsomal epoxide hydrolase* menjadi DMBA-3,4-dihydrodiol. Akhirnya, metabolit utama DMBA yaitu DMBA-3,4-dihidrodiol-1,2-epoksida (DMBA-DE) dapat diproduksi dengan bantuan CYP1B1. Metabolit utama DMBA ini menyebabkan ikatan kovalen dengan DNA dan akhirnya terjadi kerusakan DNA.¹⁰

2.3 Daun *Annona muricata*

Annona muricata di Indonesia dikenal sebagai sirsak. *Annona muricata* memiliki berbagai nama lokal seperti graviola (Portugis), guana'bana (Amerika Latin, Spanyol) dan nama lokal lainnya. Tanaman ini adalah spesies dari genus *Annona*, Family Annonaceae, ordo Magnoliales dan divisi Magnoliophyta. Genus *Annona* terdiri dari lebih dari 70 spesies. Tanaman *A. muricata* menjadi yang paling banyak ditanam dibandingkan berbagai spesies dari genus *Annona* yang lain.⁴⁴



Gambar 2. Daun *Annona muricata*.⁴⁵

2.3.1 Kandungan kimia

Tanaman sirsak digunakan secara luas sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit termasuk kanker. Rebusan kulit kayu, akar, biji, daun, bahkan buah sirsak dapat digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman sirsak dilaporkan mengandung 212 senyawa bioaktif. Senyawa utamanya adalah acetogenin yang diikuti oleh alkaloid, fenol dan senyawa lainnya.⁴⁴

Senyawa acetogenin yang terkandung dalam ekstrak etanol atau metanol tanaman sirsak lebih dari 120 senyawa. Senyawa alkaloid terutama terdiri dari jenis isoquinoline, aporphine dan protoberberine. Senyawa alkaloid terbanyak ditemukan dalam daun sirsak dibandingkan dengan bagian yang lain. Tanaman sirsak juga mengandung 37 senyawa fenolik. Quercetin dan asam galat merupakan senyawa fenolik penting yang ditemukan di daun sirsak. Berbagai senyawa lain seperti vitamin, karotenoid, amida, dan siklopeptida juga terdapat dalam tanaman sirsak.⁴⁶

Acetogenin diduga bersifat sitotoksik terhadap sel kanker. Senyawa acetogenin memiliki sifat sitotoksik yang selektif terhadap sel kanker dan juga efektif untuk sel kanker yang resistan terhadap obat, namun hanya menunjukkan toksisitas minimal pada sel-sel normal.¹⁵ Senyawa alkaloid dalam *Annona muricata* juga diduga memiliki efek sitotoksik. Senyawa fenolik dianggap sebagai fitokimia utama yang bertanggung jawab atas aktivitas antioksidan.⁴⁴

2.3.2 Ekstrak etanol daun *Annona muricata*

Pembuatan ekstrak daun sirsak dipilih menggunakan pelarut etanol daripada menggunakan air atau infusa. Pada penelitian secara *in vitro* dilaporkan infusa daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} 0,9077 mg/ml. Efek sitotoksik terhadap sel kanker tidak ditemukan pada infusa daun sirsak. Pada pembuatan ekstrak daun sirsak dengan menggunakan etanol dilaporkan aktivitas antioksidan secara *in vitro* ekstrak etanol daun sirsak IC_{50} 2,0456 mg/ml. Dalam percobaan secara *in vitro* ekstrak etanol daun sirsak bersifat sitotoksik selektif terhadap sel kanker.⁴⁷

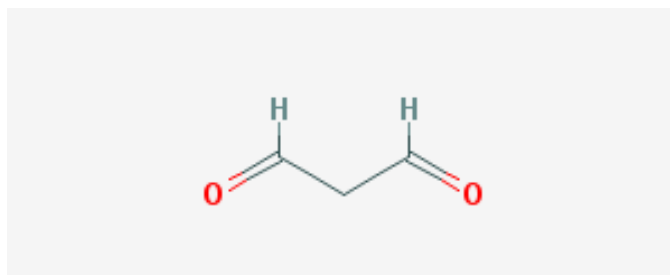
Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) memiliki aktivitas sitotoksik pada sel kanker payudara T47D dengan IC_{50} 17.149 $\mu\text{g} / \text{mL}$ dan dapat memicu terjadinya apoptosis.⁴⁸ Penelitian *in vitro* pada sel kanker pankreas manusia (Capan-1) yang dilakukan Rosdi, melaporkan bahwa fraksi heksana daun *A. muricata* mengurangi viabilitas sel.⁴⁹

Ekstrak daun *Annona muricata* dilaporkan memiliki efek anti diabetes pada tikus yang diinduksi streptozotocin. Diduga ekstrak daun *Annona muricata* berfungsi sebagai antioksidan dan memiliki sifat protektif terhadap sel pankreas sehingga metabolisme glukosa akan membaik.⁵⁰ Ekstrak daun *A. muricata* dalam penelitian secara *in vitro* dilaporkan memiliki efek antioksidan yang lebih kuat dibanding *A. squamosa* dan *A. reticulata*. Hal ini menunjukkan ekstrak daun sirsak efektif sebagai penangkal radikal bebas.⁵¹

2.3.3 Dosis terapi

Adelina melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 200 mg/kgBB/hari menunjukkan efek sebagai antiproliferasi sel hepar tikus terinduksi DMBA.⁵² Penelitian yang dilakukan Wulandari, ekstrak etanol daun sirsak sebanyak 200 mg/kgBB/hari menurunkan kadar LDL tikus.⁵³ Bila disesuaikan dengan dosis manusia dengan berat badan 70kg maka digunakan faktor konversi 60,5. Dosis absolute pada tikus yaitu 200 mg/KgBB x 200 g sebesar 40 mg. Perhitungan untuk dosis manusia sebesar 40 x 60,5 mg/70 KgBB yaitu sebesar 2420 mg/70 Kgbb atau 34.6 mg/KgBB.

2.4 *Malondialdehyde (MDA)*



Gambar 3. Struktur kimia *malondialdehyde*⁵⁴

Malondialdehyde (MDA) merupakan salah satu produk akhir dari peroksidase asam lemak tak jenuh jamak dalam sel oleh radikal bebas. Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Senyawa tersebut memiliki sifat sangat tidak stabil. Hal ini ditunjukkan oleh sifat radikal bebas yang segera menarik atau menyerang elektron disekitarnya. Oleh karena sifat yang sangat tidak stabil maka pengukuran radikal bebas secara langsung menjadi sangat sulit untuk

dilakukan. Pengukuran radikal bebas dapat dilakukan dengan mengukur produk peroksidase asam lemak seperti MDA. Pengukuran MDA merupakan cara yang mudah untuk mengukur radikal bebas.⁵⁵

Radikal bebas merupakan faktor penting dalam karsinogenesis.⁵⁶ Radikal bebas dalam sel kanker memainkan peran penting dalam inisiasi dan perkembangan kanker. Radikal bebas bisa menyebabkan kerusakan yang cukup besar pada molekul DNA, menghasilkan mutasi dan akhirnya memicu terjadinya kanker. Kerusakan DNA oleh karena oksidasi menjadi sumber utama mutasi pada organisme hidup dengan frekuensi yang diperkirakan 10^4 lesi / sel / hari pada sel manusia.⁵⁷

Radikal bebas meningkatkan produk peroksidase lipid dalam tubuh. Produk peroksidase lipid ini mampu memengaruhi replikasi DNA. Keadaan ini menyebabkan mutasi *oncogenes* dan *suppressor genes* sehingga proses apoptosis terhambat, proliferasi sel dan angiogenesis menjadi meningkat, dan menyebabkan ketidakstabilan genomik.⁵⁸ MDA merupakan produk genotoksik endogen dari peroksidase lipid yang mampu berinteraksi dengan basis asam nukleat untuk membentuk beberapa produk samping yang berbeda. Produk utama dari reaksi ini diketahui sebagai *pyrimido- [1,2- α] purin-10 (3H) -1 deoxyribose*. Senyawa tersebut diduga mampu menginduksi *frameshift mutation* yang bergantung pada urutan dan substitusi pasangan basa pada sel bakteri dan mamalia. MDA menyebabkan mutasi dan memicu terjadinya kanker.⁵⁹⁻⁶¹ Peningkatan kadar MDA dalam plasma terjadi pada pasien kanker payudara.^{22,24,25,56}

2.4.1 Faktor-faktor yang memengaruhi kadar MDA darah

MDA merupakan hasil peroksidase lipid oleh radikal bebas. Kadar MDA berkorelasi dengan jumlah radikal bebas dalam tubuh.⁶² Oleh karenanya kadar MDA darah dipengaruhi oleh berbagai faktor.

2.4.1.1 Aktivitas fisik

Radikal bebas diproduksi oleh mitokondria sebagai hasil pengolahan oksigen. Aktivitas olahraga yang dilakukan berlebihan berhubungan dengan peningkatan metabolisme dalam mitokondria sehingga mengakibatkan produksi radikal bebas meningkat sehingga kadar MDA juga akan meningkat. Aktivitas olahraga yang dilakukan secara teratur membuat tubuh beradaptasi dengan peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh. Pada orang yang rutin melakukan olahraga kapasitas sistem antioksidan tubuh akan meningkat sehingga menurunkan radikal bebas dalam tubuh.⁶³

2.4.1.2 Diet

Pola makan yang berlebihan juga mengakibatkan peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh. Makanan yang banyak mengandung lemak dan karbohidrat menyebabkan mitokondria menjadi tidak efektif sehingga produksi radikal bebas meningkat. Asupan buah dan sayur meningkatkan kadar antioksidan dalam tubuh sehingga menurunkan radikal bebas.⁶³

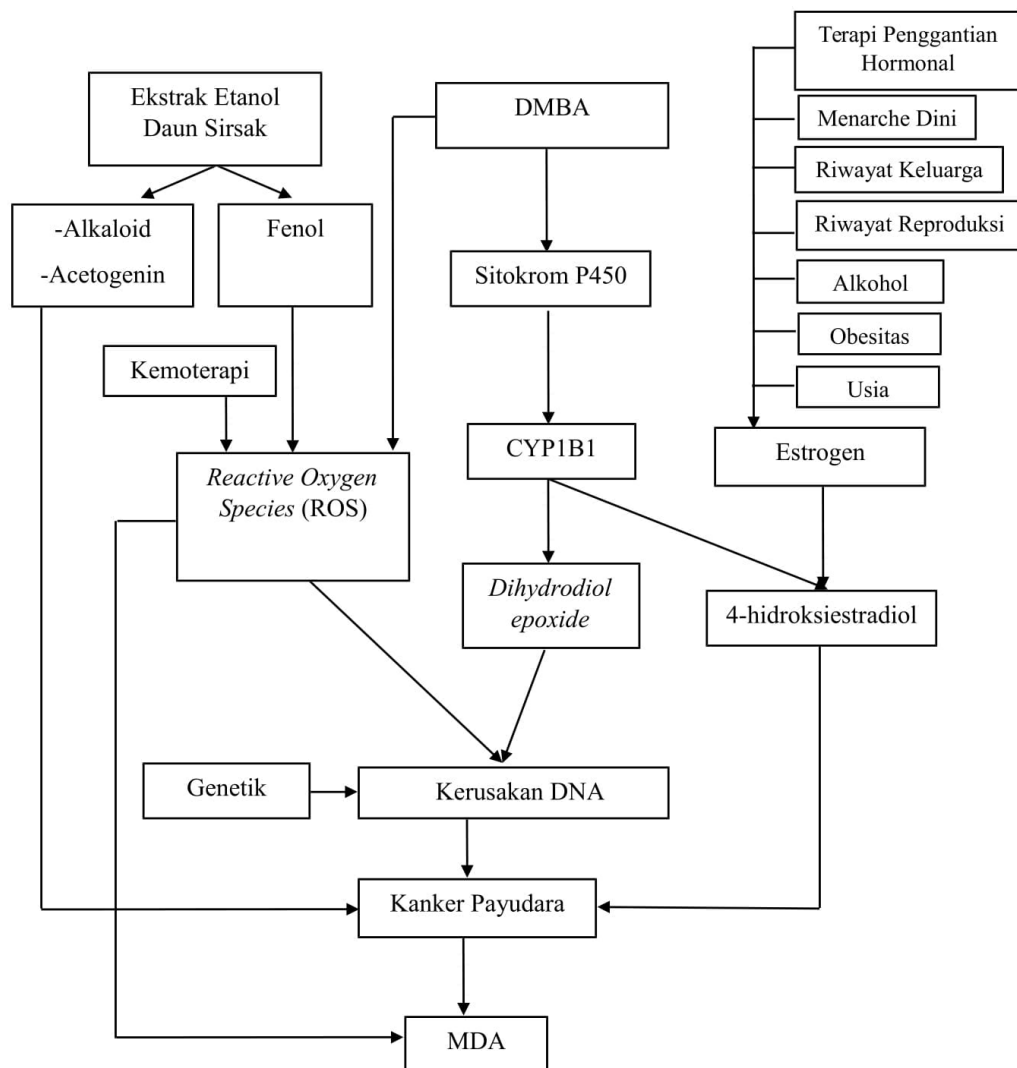
2.4.1.3 Gaya hidup

Keadaan Stres emosional akan menyebabkan peningkatan kadar radikal bebas. Polutan dan radiasi juga dianggap berhubungan dengan kadar radikal bebas dalam tubuh. Tidur yang cukup dihubungkan dengan produksi melatonin dalam tubuh yang merupakan antioksidan sehingga menurunkan kadar MDA darah.⁶³

2.4.1.4 Kemoterapi

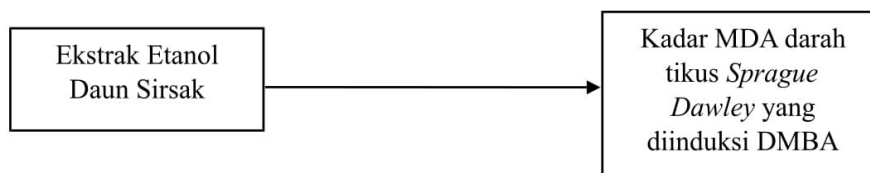
Penggunaan kemoterapi dalam kanker payudara juga dihubungkan dengan peningkatan kadar radikal bebas dalam tubuh. Kemoterapi bersifat sitotoksik terhadap sel dan memicu terjadinya apoptosis.⁶⁴ Kemoterapi melalui mekanisme penghambatan sintesis DNA, mengubah permeabilitas membran, dan membentuk senyawa *semiquinone free radicals* dan *oxygen free radical* akan berdampak sitotoksik.⁶⁵ Zat kemoterapi membentuk *semiquinone radical intermediates* yang akan bereaksi dengan oksigen membentuk senyawa hidrogen peroksida dan radikal hidroksil.⁶⁴

2.5 Kerangka teori



Gambar 4. Diagram kerangka teori

2.6 Kerangka konsep



Gambar 5. Diagram kerangka konsep

2.7 Hipotesis

Ekstrak etanol daun *Annona muricata* berpengaruh terhadap kadar MDA darah tikus Sprague Dawley yang diinduksi *7,12-Dimethylbenz[a]anthracene*