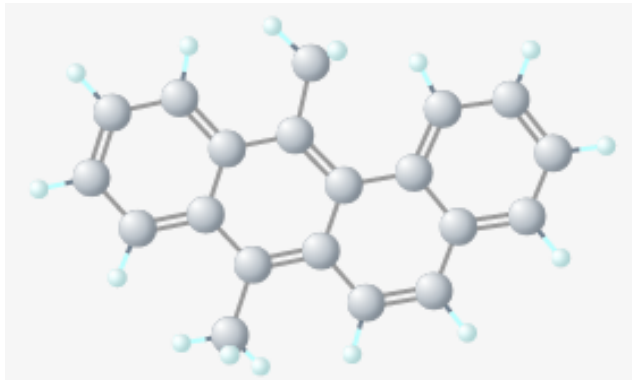


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 DMBA (7,12-Dimethylbenz(a) anthracene)

DMBA ($C_{20}H_{16}$) merupakan hidrokarbon aromatik polisiklik (*polycyclic aromatic hydrocarbon*) atau PAH yang banyak ditemukan di asap rokok yang memiliki potensi menjadi karsinogen (Gambar 1). DMBA memiliki berat molekul 256,34104 g/mol, berwarna kuning kehijauan atau kristal kuning, fluoresense maksimum pada panjang gelombang 440 nm. DMBA memiliki titik leleh yang berkisar antara 252-253 °F (PubChem, 2016). DMBA merupakan bahan kimia karsinogen yang dapat menginduksi karsinogenesis, sehingga DMBA banyak digunakan untuk studi *in vivo* yang berkaitan dengan tumor (Currier dkk., 2005).



(PubChem, 2016)

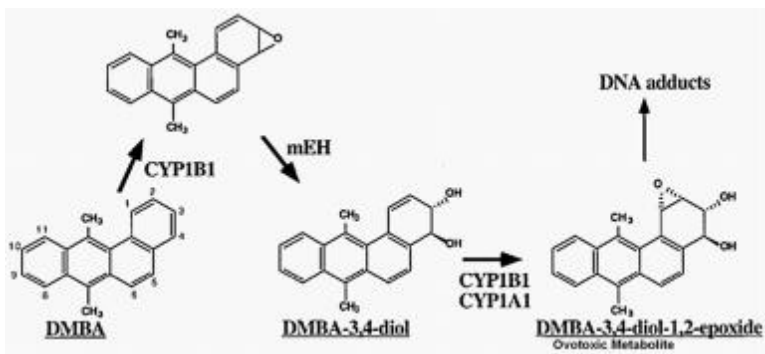
Gambar 1. Struktur molekul DMBA (CID 6001)

PAH seperti DMBA memerlukan aktivasi untuk karsinogenisitas pada sel kanker melalui dua cara yaitu dengan mediasi AhR dan aktivasi metabolisme. *Aryl hydrocarbon receptor* (AhR) merupakan ligan untuk faktor transkripsi yang akan memediasi aktivasi dari gen yang mengkode CYP1A1 dan CYP1B1 (Miyata dkk., 2001). Pemberian DMBA akan menaikkan regulasi pada reseptor sitosolik seluler AhR, ligan yang telah teraktivasi menyebabkan AhR akan bertranslokasi ke nukleus dan

berasosiasi dengan kofaktor ARNT. Aktivasi dari AhR dengan kompleks ARNT akan berikatan dengan DNA spesifik yang mengenali gen responsif AhR dan akan menginduksi transkripsi gen (Currier dkk., 2005).

Mekanisme aktivasi metabolisme dilakukan dengan mediasi enzim *microsomal epoxide hydrolase* (mEH) sebagai enzim yang mengkatalisasi hidrolisis dari *aliphatic* dan *arene epoxides* yang berhubungan dengan jalur detoksifikasi. Hidrolisis *epoxide* oleh DMBA diperlukan untuk mengaktifasi karsinogen. Tiga tahapan bioaktivasi metabolisme DMBA menjadi DMBA-3,4-diol-1,2-epoxide. DMBA akan teraktivasi di jaringan hepatic dengan P450 *isoform* 1B1 (CYP1B1) menjadi 3,4-epoxide (Miyata dkk., 1999), mEH kemudian akan mengubah DMBA-3,4-epoxide menjadi DMBA-3,4-dihydrodiol kemudian CYP1A1 atau CYP1B1 akan mengoksidasi DMBA 3,4-diol menjadi bentuk karsinogen DMBA-3,4-diol1,2-epoxide (Gambar 2). Enzim mEH tereksprei tidak hanya di jaringan hati tetapi juga di ginjal, testis, ovarium, paru-paru, timus, dan limpa (Miyata dkk., 2001).

Bentuk karsinogen DMBA-3,4-diol1,2-epoxide memiliki kemampuan untuk melakukan aduksi DNA. Aduksi DNA adalah perubahan ikatan ion pada segmen DNA. Aduksi DNA berkorelasi dengan mutasi DNA, meregulasi pertumbuhan sel dan pembentukan kemampuan malignan pada sel kanker (Veglia dkk., 2003; Currier dkk., 2005).



(Miyata dkk., 1999)

Gambar 2. Mekanisme metabolisme DMBA menjadi bentuk karsinogen DMBA-3,4-diol-1,2-epoxide

DMBA yang diberikan kepada hewan coba juga dapat menyebabkan imunotoksitas pada bagian limpa, timus, dan sumsum tulang. Imunotoksitas limpa oleh DMBA terlihat dengan pemberian DMBA pada mencit normal dengan dosis sebanyak 100 mg/kg berat badan mencit menyebabkan pengurangan ukuran dari organ limpa yang berkorelasi dengan selularitas limpa (jumlah *splenocyt*) yang juga mengindikasikan fungsi dari mEH (Miyata dkk., 2001).

Kondisi fisiologi normal tubuh pada umumnya akan menghasilkan radikal bebas oleh kompartemen selular, radikal bebas tersebut dikurangi dengan mekanisme *scavenging* oleh antioksidan. Pemberian DMBA dapat menyebabkan karsinogenesis dengan cara mengganggu sistem proteksi sehingga tidak terjadi keseimbangan antara pro-oksidan dengan antioksidan, hal tersebut juga dapat menyebabkan perubahan atau alterasi pada sel yang dapat menyebabkan karsinogenesis (Batchioglu dkk., 2012).

2.2 Proses Terbentuknya Kanker

Inflamasi adalah respon yang penting untuk memperbaiki kerusakan jaringan dan mengatasi agen patogen. Jika inflamasi tidak diatur dan menjadi kronis dapat menginduksi transformasi sel malignan pada jaringan sekitar. Sebenarnya tujuan utama dari respon inflamasi ini adalah untuk menghilangkan agen asing yang mengganggu homeostasis jaringan. Pada fisiologi normal setelah terjadi inflamasi, jaringan akan mengeliminasi patogen dan akan terjadi proses perbaikan jaringan. Inflamasi akan dihentikan dan akan memasuki fase homeostatis. Inflamasi dapat meningkatkan resiko kanker dengan adanya molekul bioaktif dari sel yang berada di lingkungan mikro kanker salah satunya adalah sitokin, faktor pertumbuhan, dan kemokin yang dapat mendukung sel kanker berkembang, menghasilkan sinyal untuk menghindari apoptosis, faktor proangiogenik, dan modifikasi enzim matrik ekstraseluler seperti metaloprotein yang akan mempromosikan *epithelial-mesenchymal transition* (EMT) dan memfasilitasi program karsinogenesis lainnya seperti ketidakstabilan genom, pemrograman kembali metabolisme energi, dan penghindaran respon imun (Landskron dkk., 2014).

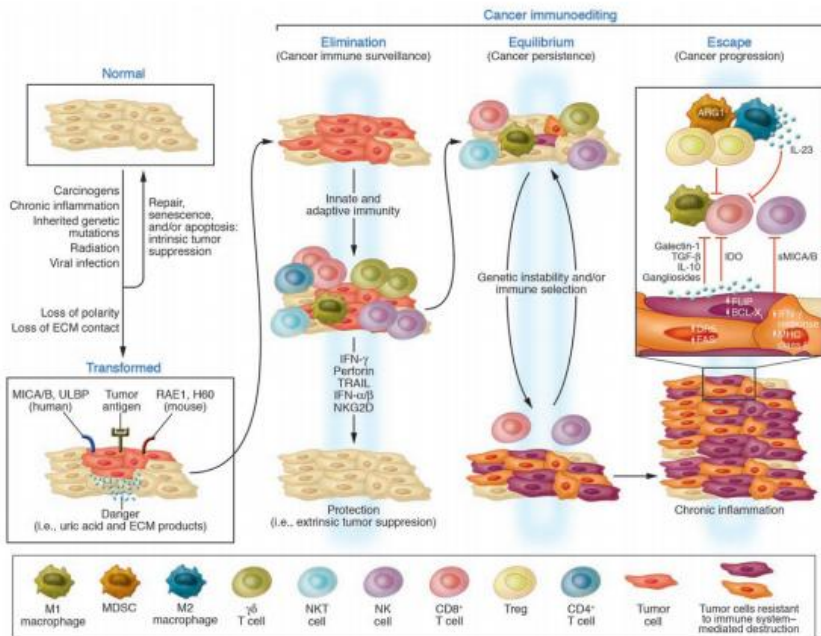
Sitokin adalah protein dengan berat molekul rendah yang memediasi komunikasi antar sel. Sel tromal dan protein seperti fibroblas dan sel endotelial dapat mensintesis sitokin dan selanjutnya sitokin dapat meregulasi proliferasi, kelangsungan hidup sel, diferensiasi, aktivasi sel imun, migrasi sel, dan kematian sel. Sistem imun dapat merespon dengan membentuk antitumor tetapi pada fase inflamasi kronis, sitokin juga dapat menginduksi tranformasi sel dan malignansi sel, bergantung pada kesetimbangan sitokin proinflamasi dan antinflamasi, konsentrasi relatif, ekspresi reseptor sitokin dan fase aktivasi di sekitar sel (Landskron dkk., 2014).

Sistem imun memiliki tiga peran utama pada pencegahan tumor yaitu sitem imun dapat memproteksi sel dari virus yang dapat menginduksi tumor dengan cara eliminasi atau mensupress infeksi virus. Sistem imun dapat mengeliminasi patogen dan juga dapat menginduksi respon inflamasi yang tepat sehingga mampu mencegah perkembangan sel kanker, ketiga proses tersebut dapat disebut dengan *immune survaillance* yaitu sistem imun dapat mengenali sel kanker atau sel pre kanker dan dapat mengeliminasi sel tersebut sebelum dapat menimbulkan kerusakan (Swann & Smyth, 2007).

Proses terbentuknya kanker terbagi menjadi tiga fase yaitu eliminasi, equilibrium, dan *escape* (Gambar 3). Pada fase eliminasi sistem imun memiliki kemampuan untuk mendeteksi dan mengeliminasi sel tumor yang sedang berkembang sehingga dapat menimbulkan mekanisme penekanan pertumbuhan sel tumor. Fase eliminasi dapat dikatakan selesai ketika semua sel tumor telah hilang, tetapi dapat juga terjadi eliminasi yang tidak tuntas yaitu hanya sebagian dari sel tumor yang tereliminasi sedangkan sel tumor lainnya dapat melakukan mekanisme dorman atau melanjutkan perkembangan dengan akumulasi perubahan seperti mutasi DNA atau perubahan ekspresi gen yang dapat memodulasi antigen spesifik tumor. Sistem imun akan secara selektif mengeliminasi sel tumor (Swann & Smyth, 2007).

Sistem imun yang baik dapat melakukan eliminasi kanker secara sempurna tetapi seringkali respon sistem imun tidak dapat mengeliminasi kanker secara sempurna sehingga sel tumor dengan heterogenitas yang bervariasi memiliki kemampuan untuk melawan, menghindari atau menurunkan respon imun antitumor. Fase tersebut merupakan fase equilibrium, merupakan fase dimana sel kanker hampir setimbang dengan sistem imun kompeten kemudian akan bersiap pada fase *escape*. Fase *escape* adalah fase dimana sel kanker yang semakin heterogen mampu memiliki mekanisme pertahanan, menekan sel imun, penghindaran dari

pengenalan sistem imun, dan perekrutan sel yang dapat membantu pertumbuhan sel tumor. Sel kanker yang semakin cepat berproliferasi akan membentuk jalur yang dapat membantu pertumbuhan dan menyediakan kebutuhan sel kanker dalam berproliferasi dan bermetastasis. Sel kanker yang bermestastasis memiliki potensi untuk menyebar ke jaringan atau organ lainnya melalui peredaran darah (Swann & Smyth, 2007).



(Swann & Smyth, 2007)

Gambar 3. Proses terbentuknya tumor. Tumor terdiri dari tiga fase yaitu eliminasi atau *cancer immune surveillance*, equilibrium atau fase dormansi tumor dimana sel tumor dan imunitas masuk pada dinamik equilibrium yang menjadi ekspansi tumor, dan fase *escape* ketika sel tumor kembali muncul dan mengurangi imunogenisitas atau menggunakan sejumlah mekanisme immunosupresif yang memungkinkan untuk melemahkan respon imun antitumor sehingga tumor dapat bertumbuh secara progresif.

2.3 Respon Imun Inflamasi

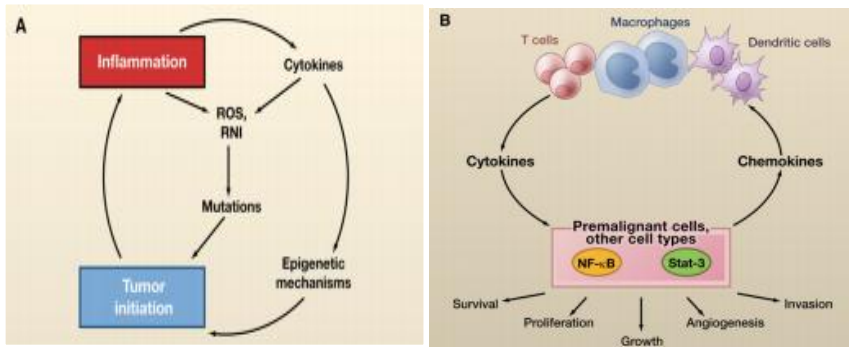
Inflamasi adalah reaksi lokal jaringan terhadap infeksi atau cedera dan melibatkan banyak mediator. Inflamasi merupakan reaksi fisiologis terhadap suatu rangsangan seperti infeksi dan cedera jaringan. Infeksi diperlukan sebagai bentuk pertahanan tubuh terhadap mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh, penyembuhan luka yang membutuhkan komponen seluler untuk membersihkan debris pada lokasi yang cedera, serta akan meningkatkan perbaikan jaringan. Jika terjadi cedera jaringan akan terjadi vasodilatasi yang dapat menyebabkan edema dikarenakan peningkatan permeabilitas vaskular sehingga terjadi kebocoran cairan pembuluh darah. Leukosit yang menempel pada daerah endotel akan melakukan ekstrasvasasi yaitu dengan cara bermigrasi ke daerah inflamasi melewati dinding kapiler. Pada keadaan normal hanya sebagian kecil transudat yang dapat melewati dinding kapiler tetapi jika terjadi inflamasi sel endotel akan mengkerut sehingga molekul besar dapat melewati dinding sel salah satunya adalah cairan yang mengandung banyak sel inflamasi atau yang disebut dengan eksudat inflamasi. Inflamasi yang disebabkan infeksi salah satunya adalah infeksi mikroba dilakukan dengan melepaskan toksin yang akan memicu mediator proinflamasi kemudian memicu vasodilatasi dan infiltrasi seluler (Baratawidjaja & Rengganis, 2013).

Inflamasi terjadi dalam tiga tahap yaitu inflamasi lokal yang akan memberikan proteksi awal terhadap infeksi atau cedera jaringan. Kemudian inflamasi dapat berlanjut ke inflamasi akut ditandai dengan reaksi sistemik dan perubahan protein plasma. Inflamasi akut berfungsi untuk eradikasi bahan atau mikroorganisme yang memicu respon awal. Inflamasi akut sistemik dapat terjadi pada jaringan lokal yaitu peningkatan produksi mukus kalenjar dan pembentukan kembali jaringan yang rusak sehingga dapat menimbulkan pembentukan jaringan parut. Pada beberapa keadaan dimana eradikasi pada inflamasi akut tidak efektif atau tidak lengkap dapat memunculkan fase inflamasi kronis yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan yang bergantung pada bahan pemicu, tempat terjadinya rekasi, dan respon imun yang dominan. Pada respon inflamasi kronis monosit dan makrofag mempunyai peranan penting untuk fagositosis mikroba, debris seluler, dan neutrofil yang berdegenerasi serta untuk memodulasi respon imun dan fungsi sel T melalui presentasi antigen dan sekresi sitokin (Baratawidjaja & Rengganis, 2013).

Respon inflamasi merupakan respon yang penting sebagai respon imunitas terhadap infeksi atau cedera, respon inflamasi dapat berhenti sendiri atau responsif terhadap terapi salah satunya adalah menggunakan sistem kontrol dari sitokin inflamasi (IL-4, IL-10, dan TGF- β) yang akan mencegah produksi dari mediator pro-inflamatori. Fase inflamasi yang telah dinetralkan selanjutnya akan menginduksi fase penyembuhan jaringan seperti fibroblast dan makrofag. Jika proses kontrol terhadap inflamasi tidak dapat dihentikan dapat menimbulkan penyakit inflamasi (Baratawidjaja & Rengganis, 2013). Inflamasi yang menginduksi mutagenesis dapat menekan respon gen *recovery* dan menginduksi ROS yang dapat menyebabkan inaktivasi oksidatif, ketika sistem perbaikan tidak berjalan dengan baik, maka tumor akan menaikkan gen yang berperan pada inflamasi yang akan menginduksi mutagenesis dan mengaktifkan gen supresi tumor seperti Tgfbr2 dan Bax (Gambar 4 A) (Grivennikov dkk., 2010).

Mekanisme lainnya adalah ekspresi berlebih dari *activation-induced cytidine deaminase* (AID) yang akan menginduksi NF-kB atau TGF- β . AID juga dapat menyebabkan ketidakstabilan genomik dan meningkatkan mutasi. Mekanisme lainnya adalah ketika terjadi inflamasi, tumor akan memproduksi faktor pertumbuhan dan sitokin yang akan membuat *stem cell-like phenotype* menjadi progenitor tumor atau menstimulasi ekspansi stem sel. Sel tumor akan mengaktifkan STAT3 yang berhubungan dengan pemrograman ulang dan pembaharuan *stem cell* dan NF-kB yang akan memfasilitasi pertumbuhan dan metastasis kanker (Gambar 4 B) (Grivennikov dkk., 2010).

Lingkungan mikro sel kanker mengandung sel imun *innate* termasuk makrofag, neutrofil, sel mast, *myeloid-derived suppressor cell*, sel dendritik, dan *natural killer* (NK) dan sel imun adaptif yaitu sel B dan sel T. Masing-masing dapat berkomunikasi secara langsung atau memproduksi sitokin dan kemokin untuk mengontrol pertumbuhan dari tumor. Inflamasi kronis dikarenakan infeksi atau penyakit yang akan mempengaruhi pertumbuhan kanker dan berkontribusi pada induksi mutasi onkogenik, ketidakstabilan genomik, perkembangan awal tumor, dan kenaikan angiogenesis. Respon inflamasi akan meningkatkan neoangiogenesis, menginisiasi progresi tumor dan metastasis, menyebabkan imunosupresi lokal, dan ketidakstabilan genomik lebih lanjut (Grivennikov dkk., 2010)



(Grivennikov dkk., 2010)

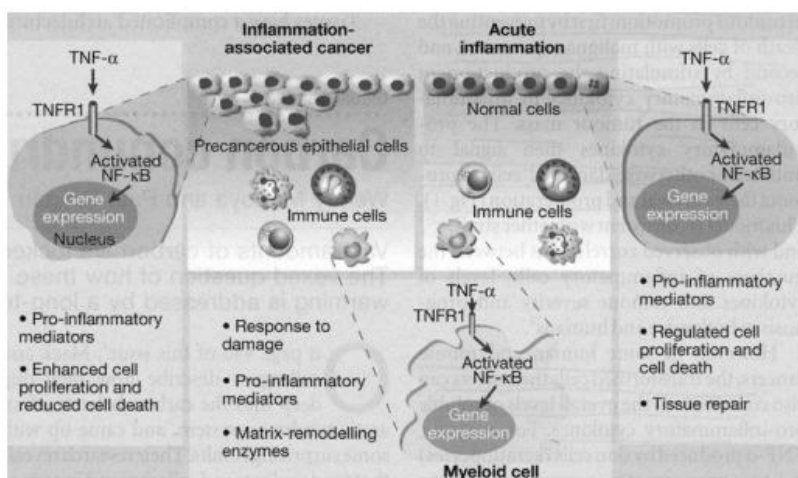
Gambar 4. Peran inflamasi pada inisiasi dan promosi tumor. A.) Inisiasi tumor diakibatkan produksi ROS dan RNI oleh sel inflamatori menyebabkan mutasi B.) Promosi tumor, sitokin yang diproduksi oleh sel *tumor-infiltrating immune* akan mengaktifkan faktor transkripsi seperti NF-κB atau STAT3 yang akan menginduksi produksi kemokin untuk menunjang *tumor-associated inflammation*

2.4 Peran Profil Sel T CD4, TNF-α, dan IFN-γ

Sel T sitotoksik CD8⁺ dikenal sebagai imunitas antitumor yang efektif dan pada kanker payudara. Sel T CD8⁺ dalam tingkat yang tinggi berasosiasi dengan tingkat ketahanan pasien, tetapi studi *in vivo* menyatakan bahwa sel T CD8⁺ tidak dapat melaksanakan fungsinya jika kekurangan fungsi dari sel T CD4⁺ (Trantien dkk., 2013). Sel T CD8⁺ dapat mengenali peptida yang diproses secara intraseluler oleh MHC kelas I sedangkan sel T CD4⁺ mengenali peptida dari MHC kelas II (Ruddon, 2007). Sel T CD4⁺ memiliki peran penting dalam imunitas untuk merekrut, mengaktifkan, dan meregulasi respon imun adaptif dengan sel B dan sel T sitotoksik CD8⁺. Sel T CD4⁺ juga dapat menimbulkan respon imun *innate* (Trantien dkk., 2013).

TNF memiliki efek biologis sebagai pengarah neutrofil dan monosit ke tempat terjadinya infeksi, merangsang makrofag menskresi kemokin dan menginduksi kemotaksis (Baratawidjaja & Rengganis, 2013). TNF-α diidentifikasi sebagai sitokin yang diproduksi oleh sistem imun yang mempunyai kapasitas dalam menurunkan proliferasi sel tumor dan menginduksi regresi dari sel tumor. TNF-α memiliki respon yang

berbeda tergantung pada kondisi fisiologi tertentu seperti perkembangan tubuh dan imunitas, serta respon patologi seperti inflamasi, pertumbuhan tumor, penolakan transplantasi, *rheumatoid arthritis*, dan syok septis (Wang & Lin, 2008). Pada level selular TNF- α dapat mengaktifasi jalur sinyal yang akan meregulasi kelangsungan hidup dari sel, proliferasi atau kematian sel atau di sisi lain dapat juga menunjang pertumbuhan dan angiogenesis dari kanker termasuk proliferasi, perubahan, angiogenesis, invasi, dan metastasis dari kanker (Gambar 5) (Yu dkk., 2013).



(Ruddon, 2007)

Gambar 5. Mekanisme inflamasi oleh TNF- α dan NF- κ B

Sitokin IFN- γ dapat memblokir infeksi virus pada sel. Sitokin IFN- γ disebut juga sebagai interferon imun yang diproduksi oleh sel limfosit T sebagai respon terhadap antigen atau stimulasi mitogen. Sitokin IFN- γ memiliki dua macam glikoprotein yaitu 20 kDa dan 25 kDa yang mana protein tersebut merupakan labil pada keadaan asam (Ruddon, 2007). IFN- γ akan mempengaruhi CD4 Th1 dan sel T CD8, DC matang, sel NK, makrofag M1 dan sel NKT tipe 1 yang mempunyai respon antitumor (Trantien dkk., 2013).

Peran dari IFN- γ yang meningkat akan memiliki efek membunuh secara seluler oleh makrofag yang dimediasi oleh antibodi IgG termasuk produksi reseptor F_c pada permukaan makrofag. IFN- γ dapat meningkatkan presentasi dengan meningkatkan ekspresi MHC kelas II oleh APC (Ruddon, 2007). IFN- γ akan merangsang MHC-I, MHC II, dan kostimulator APC. IFN- γ akan meningkatkan diferensiasi sel CD4 menjadi Th 1 dan mencegah proliferasi Th2 (Baratawidjaja & Rengganis, 2013).

2.5 Lemon (*Citrus limon*)

Lemon atau yang memiliki nama latin *Citrus limon* memiliki berbagai manfaat, baik dalam bidang pangan maupun non-pangan. Buah dengan bentuk oval berwarna kuning ini mengandung 5 – 6 % asam sitrat yang menyebabkan adanya rasa asam. Menurut Morton (1987), Buah lemon berbentuk oval dengan tonjolan pada bagian ujungnya, panjang 7 – 12 cm. Daging buah biasanya berwarna kuning muda, meskipun beberapa buah memiliki garis-garis berwarna hijau dan kuning atau putih, beraroma khas, memiliki kelenjar minyak, ketebalan 6 – 10 mm, *pulp* berwarna kuning pucat, terdiri dari 8 – 10 segmen, *juicy*, dan asam (Gambar 6.)



(Morton, 1987)

Gambar 6. Buah tanaman lemon

Lemon mengandung berbagai senyawa kimia bermanfaat, yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan monoterpen berupa limonene (75%), γ -terpinen (11%) β -pinen (4%), *p*-cymene (2%), α -pinene (1%) dan myrcene (1%) (Lucker dkk., 2002). Limonene ditemukan pada seluruh bagian lemon yang menyebabkan rasa pahit, senyawa ini berfungsi untuk mengurangi kadar kolesterol dan sebagai pencegah perkembangan kanker, mencegah multiplikasi kanker pada mulut, payudara, kulit, paru-paru, dan kolon. (Stanway, 2011). D-limonene akan terdistribusi pada jaringan tubuh dan dimetabolisme dengan cepat, metabolit tersebut terdeteksi pada serum, liver, paru-paru, ginjal, dan beberapa jaringan lainnya dengan konsentrasi tertinggi terdeteksi pada jaringan adiposa dan kelenjar *mammae*. D-limonene dapat memetabolisme karsinogen menjadi bentuk yang kurang toksik, menghambat interaksi kimia karsinogen dengan DNA, menghambat proliferasi sel tumor, dan meningkatkan kematian sel tumor. D-limonene juga akan meningkatkan respon imun dengan meningkatkan fagositosis, aktivitas *microbicidal*, dan produksi *nitric oxide* (Malzman dkk., 1989; Sun, 2007).

Tabel 1. Kandungan senyawa dalam 100 g lemon (Morton, 1987)

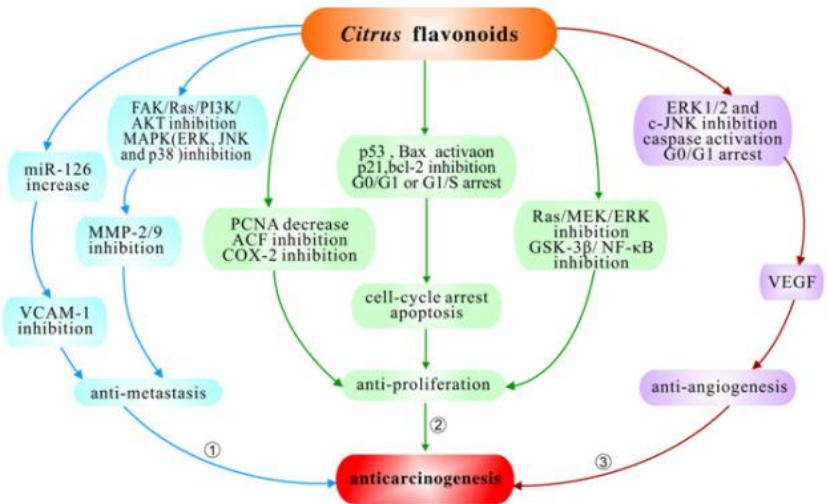
Senyawa	Buah (segar, dikupas)	Jus (segar)	Jus (kaleng,tanpa pemanis)	Jus (beku, tanpa pemanis)	Kulit buah (mentah)
Kalori	27 g	25 g	23 g	22 g	
Protein	1.1 g	0.5 g	0.4 g	0.4 g	1.5 g
Lemak	0.3 g	0.2 g	0.1 g	0.2 g	0.3 g
Karbohidrat	8.2 g	8.0 g	7.6 g	7.2 g	16.0 g
Serat	0.4 g	<i>Trace</i>	<i>Trace</i>	<i>Trace</i>	
Kalsium	26 mg	7 mg	7 mg	7 mg	134 mg
Fosfor	16 mg	10 mg	10 mg	9 mg	12 mg
Zat besi	0.6 mg	0.2 mg	0.2 mg	0.3 mg	0.8 mg
Sodium	2 mg	1 mg	1 mg	1 mg	6 mg
Potassium	138 mg	141 mg	141 mg	141 mg	160 mg
Vitamin A	20 I.U.	20 I.U.	20 I.U.	20 I.U.	50 I.U.
Thiamine	0.04 mg	0.03 mg	0.03 mg	0.03 mg	0.06 mg
Riboflavine	0.02 mg	0.01 mg	0.01 mg	0.01 mg	0.08 mg
Niacin	0.1 mg	0.1 mg	0.1 mg	0.1 mg	0.4 mg
Asam askorbat	53 mg	46 mg	42 mg	44 mg	129 mg

Citrus L merupakan famili dari Rutaceae, lemon mengandung serat yang dapat larut, vitamin esensial, elemen mineral dan komponen bioaktif seperti flavonoid. Flavonoid adalah tipe dari campuran polifenol yang mempunyai struktur dua cincin aromatik yang berikatan dengan tiga karbon atom (Zunli dkk., 2015).

Aktivitas antioksidan flavonoid dalam lemon berfungsi untuk menghambat atau mencegah oksidasi dari substrat. Flavonoid memiliki fungsi sebagai agen pereduksi dari radikal bebas atau *reactive oxygen species* (ROS) dan agen pereduksi metal dalam tubuh (*metal chelator scavenger*). Penumpukan ROS dapat menyebabkan beberapa kerusakan dalam sel yaitu kerusakan DNA, internal oksidatif stress dan terbentuknya kompleks NADPH, sehingga dapat meningkatkan resiko berkembangnya kanker dalam tubuh (Zunli dkk., 2015).

Flavonoid pada lemon juga dapat meningkatkan respon imun sel T dan sel B, serta dapat mereduksi sitokin proinflamasi. Flavonoid dalam lemon berfungsi sebagai antiinflamasi akan menghambat reaksi katalisis oleh fosfolipase, *cyclooxygenase* (COX) dan *lipoxygenase* pada respon inflamasi. Tahap inflamasi kronis perlu dihindari karena inflamasi berkontribusi pada regresi dari kanker dan berkaitan dengan tahap karsinogenik diantaranya adalah transformasi seluler, promosi, ketahanan, proliferasi, invasi, angiogenesis, dan metastasis. Inflamasi kronik dapat menyebabkan mutasi genetik, genomik yang tidak stabil, dan modifikasi epigenetik. Flavonoid pada lemon dapat berperan sebagai antiproliferasi dengan menghambat beberapa kinase yang akan menyebabkan perhentian siklus sel dan akan menuju apoptosis atau program kematian sel. Representatif dari jalur carsinogenik dari citrus flavonoid ditunjukkan pada gambar 7 (Zunli dkk., 2015).

Ekstrak lemon dapat menginduksi apoptosis sel dengan mediasi p53 yang akan menurunkan regulasi Mdm2. Apoptosis juga dapat terjadi karena korespodensi dengan *tumor necrosis factor* (TNF- α). Ekstrak lemon dapat menginduksi apoptosis karena memiliki molekul aktif yang dapat menginduksi peran dari gen yang akan meningkatkan kematian sel dan menurunkan sifat proliferasi dari sel tumor tersebut (Alshatwi dkk, 2011).



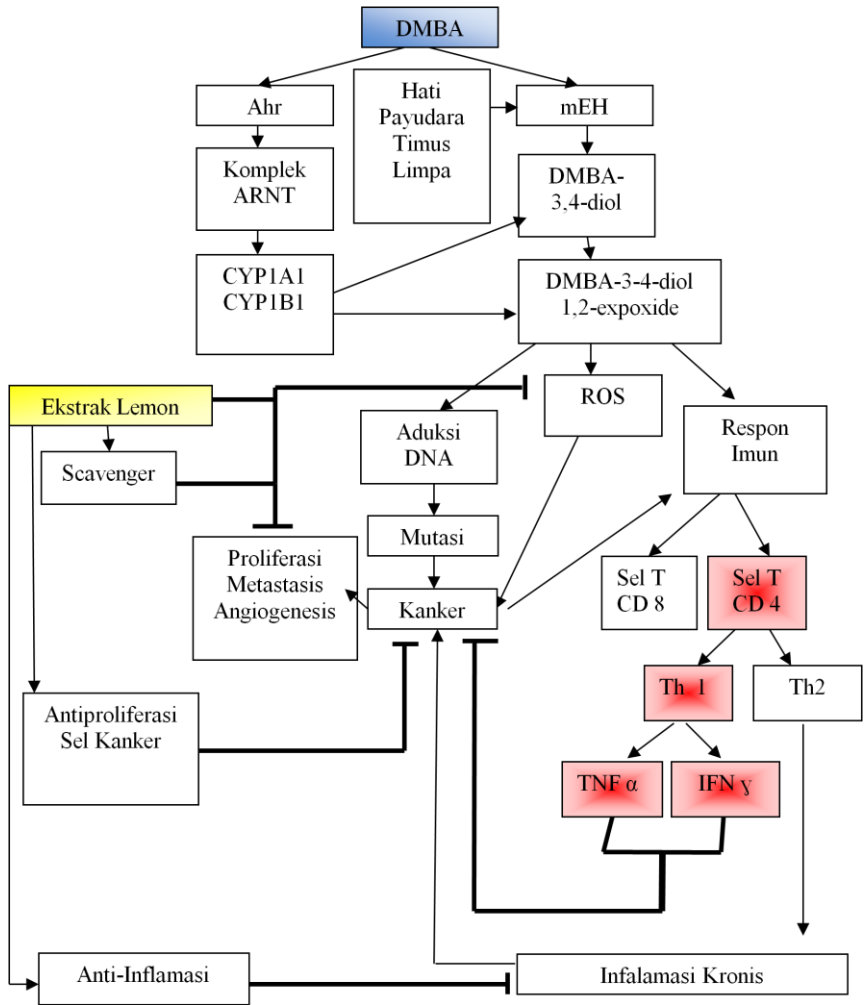
(Zunli dkk., 2015).

Gambar 7. Jalur antikanker pada kandungan flavonoid lemon. 1.) Aktivitas anti metastasis dengan menghambat VCAM-1 dan MMP-2/9 dengan meningkatkan miR-126, 2.) Antiproliferasi dengan mengurangi PCNA atau menghambat pembentukan ACF, dan 3.) Anti angiogenesis dengan menghambat ERK ½ dan c-JNK

2.7 Kerangka Konsep Penelitian

Kerangka konsep yang digunakan dalam penelitian ini didasari pada mekanisme reaksi imun pada sel kanker. Pemberian karsinogen untuk menstimulasi pembentukan kanker. DMBA yang diinduksi kedalam mencit model payudara akan teraktivasi menjadi bentuk karsinogen melalui dua cara yaitu dengan membentuk kompleks ARNT dan mekanisme metabolisme. Aktivasi DMBA menjadi bentuk karsinogen dapat mestimulasi respon sistem imun, salah satunya adalah reaksi imun oleh CD4⁺. Sel leukosit T CD4⁺ akan berdiferensiasi menjadi sel Th 2 yang dapat menginisiasi respon imun pro tumor. Reaksi inflamasi oleh sitokin hasil sekresi Th2 akan menimbulkan inflamasi yang berlangsung terus menerus dan tidak dapat dikendalikan yang dapat memunculkan reaksi inflamasi kronis.

Pada fase inflamasi kronis dapat memiliki efek sitotoksik bagi sel, ketika tubuh tidak mampu melakukan perbaikan akan memunculkan ketidakstabilan genomik yang dapat menyebabkan mutasi. Mutasi tersebut dapat menyebabkan sel terus membelah dan berkembang secara heterogen. Pertumbuhan yang terjadi terus menerus, dalam waktu yang relatif cepat, dan tidak dapat terkendali dan dapat meninisiasi kanker. Sistem imun dapat mencegah atau menekan pertumbuhan sel kanker melalui respon imun, salah satunya adalah melalui respon sel limfosit efektor CD4⁺ yang berdiferensiasi menjadi Th1 yang mensekresi sitokin TNF- α dan IFN- γ . Sitokin TNF- α dan IFN- γ dapat menginduksi respon imun antitumor dengan mengaktifkan sel imunokompeten lainnya diantaranya adalah kemampuan CTL oleh CD8, mengaktifkan APC, meningkatkan MHC, dan mengaktifkan makrofag M1. Pemberian ekstrak lemon yang mengandung flavonoid memiliki kemampuan untuk menekan sel kanker baik secara imunitas dan seluler yaitu sebagai anti-inflamasi dan *scavenger*. Anti inflamasi diperlukan untuk menurunkan respon inflamasi yang terlalu tinggi yang dapat menyebabkan efek sitotoksik pada sel dan ketidakstabilan genomik. Ekstrak lemon diduga memiliki kemampuan *scavenger*. Ekstrak lemon memiliki kandungan flavonoid sebagai antioksidan yang dapat menurunkan radikal bebas didalam tubuh (Gambar 8).



Keterangan :

- : Karsinogen
- : Bahan Alami
- : Parameter
- \rightarrow : Mengaktivasi / Mengsekresikan
- \dashv : Menghambat/ Menekan proliferasi

Gambar 8. Kerangka konsep penelitian