

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Mammae

2.1.1 Etiologi

Kanker mammae merupakan kelompok neoplasma ganas yang menyerang jaringan epitel mammae. Umumnya karsinoma ini berasal dari sel-sel yang terdapat pada duktus dan beberapa karsinoma lain yang berasal dari lobulus atau jaringan lainnya. Karakteristik kanker mammae diantaranya bersifat invasif ke jaringan sekitar dan memiliki kecenderungan bermetastasis ke jaringan yang lebih dalam (Ellis *et al.*, 2011).

Pada hewan, Kanker mammae dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti hormon, sinar UV, karsinogenesis, infeksi virus, gaya hidup, lingkungan, serta keadaan klinis yang merupakan faktor predisposisi terjadinya neoplasma ganas. Kebanyakan kasus yang terjadi pada anjing ini terjadi diakibatkan oleh faktor hormonal. Berdasarkan beberapa penelitian, adanya peningkatan jumlah hormon-hormon tersebut semakin membesar dan membentuk kanker mammae (Allison *et al.*, 2003).

Secara keseluruhan kasus kanker mammae ini yang terjadi 41-53% merupakan tumor malignan. Perbandingan presentase antara *benign* dan *malignant* kurang lebih sekitar 50-50, meskipun angka kejadian pada hewan peliharaan cenderung lebih jarang mengalami *benign mammary neoplasia* (Polton, 2009). Pengaruh hormonal terlibat dalam patogenesis tumor mammae pada anjing. Penelitian telah dilakukan untuk menentukan peran progesteron, testosteron, serta estrogen dalam menyebabkan tumor mammae pada anjing. Kanker ini umumnya

menyerang pada anjing betina yang masih bereproduksi dan memiliki kisaran umur 5-10 tahun, namun juga pernah dilaporkan terjadi pada anjing betina berusia 2 tahun.

2.1.2 Patomekanisme

Kanker atau neoplasma dapat didefinisikan sebagai masa jaringan abnormal yang tumbuh berlebihan tanpa adanya koordinasi dengan pertumbuhan jaringan normal dan akan tetap tumbuh secara berlebih walaupun stimulus yang menyebabkan perubahannya berhenti (Laumbacher, 2006). Pada dasarnya, awal timbulnya semua kanker adalah hilangnya tanggapan atau respon terhadap kendali pertumbuhan normal. Hilangnya respon tersebut disebabkan karena mutasi dari gen-gen dalam tubuh (Abbas *et al.*, 2013).

Sel-sel kanker dibentuk dari sel-sel normal melalui proses transformasi yang terdiri dari proses inisiasi dan promosi. Pada tahap inisiasi terjadi perubahan dalam bahan genetik sel yang memicu sel menjadi ganas. Perubahan dalam bahan genetik ini disebabkan oleh adanya agen karsinogenik yang dapat berupa zat kimia, virus, maupun radiasi sinar-sinar tertentu. Tidak semua sel memiliki kepekaan yang sama terhadap karsinogen. Kelainan pada gen-gen promoter, dapat menyebabkan sel menjadi lebih rentan terhadap suatu karsinogen. Pada tahap promosi, sel yang telah melewati tahap inisiasi akan berubah menjadi ganas atau tidak terkendali (Lin and Karin, 2007). Salah satu gen yang memegang peranan penting dalam mekanisme terbentuknya kanker adalah *Tumor Suppressor Gen*, yaitu gen p53. Fungsi utama p53 adalah kemampuannya memperbaiki DNA dan mengaktifkan apoptosis sel sebagai bentuk pengontrol negatif pertumbuhan sel. Terganggunya fungsi kerja dari p53 dapat mengakibatkan hilangnya kemampuan

p53 sebagai anti-proliferasi sel, sehingga sel berproliferasi secara berlebihan dan menjadi sel kanker (Perhimpunan Onkologi Indonesia, 2010).

Bahan karsinogen kimia pada umumnya memerlukan paparan berulang kali sebelum mengakibatkan terjadinya transformasi sel menjadi kanker. Periode adanya kontak awal bahan karsinogen hingga menimbulkan sel menjadi kanker disebut sebagai periode laten, yang lamanya bergantung pada dosis karsinogen yang diberikan. Pada fase awal pertumbuhan sel kanker terdiri atas 3 tahap yaitu fase inisiasi, fase promosi, dan fase progresi. Fase inisiasi merupakan proses yang ireversibel, biasanya berlangsung cepat, dan karsinogen mengakibatkan lesi DNA permanen. Pada fase promosi berlangsung lama dan bersifat reversible, biasanya terjadi berbagai perubahan pada sel atau jaringan seperti perubahan sintesis fosfolipid, perubahan sintesis DNA dan RNA, pelepasan prostaglandin, perubahan morfologi sel, dan lain-lain. Fase ke-3 yaitu fase progresi, merupakan fase dimana terjadi evolusi sel menjadi neoplasma sel (Perhimpunan Onkologi Indonesia, 2010).

Kasus kanker mammae disebabkan oleh proliferasi sel epitel yang membatasi duktus atau lobus mammae. Pada tahap awal hanya terdapat hiperplasia sel dengan perkembangan sel-sel atipikal. Sel-sel ini kemudian berlanjut menjadi karsinoma in situ dan menginvasi stroma. Pada sebagian besar kasus, kanker membutuhkan waktu kurang lebih 7 tahun untuk tumbuh dari satu sel menjadi massa yang cukup besar untuk dapat dipalpasi (diameter sekitar 1 cm). Pada ukuran tersebut, sekitar 25% kanker mammae sudah mengalami metastasis (Wooster and Weber, 2005).

Patomekanisme terjadinya kanker mammae melibatkan banyak faktor. Zat

karsinogenik yang masuk dalam tubuh menyebabkan peningkatan jumlah ROS (*reactive oxygen species*) sehingga menyebabkan reaksi stress oksidatif dimana kedua faktor ini akan mengaktifasi faktor-faktor transkripsi dan faktor proinflamatori dalam tubuh (Currier, 2005). Beberapa produk proinflamasi yang memiliki peran penting pada penekanan apoptosis, peningkatan proliferasi, angiogenesis, invasi dan metastasis, diantaranya adalah : IL-1 (*Interleukin-1*) dan COX-2 (*Cyclooxygenase-2*) (Karin dan Lin, 2007).

2.2 Interleukin-1

Interleukin-1 merupakan sitokin penting yang memediasi respon inflamasi dan autoimun (Dinarello, 2005). IL-1 terlibat dalam berbagai kegiatan seluler, termasuk proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis. Sitokin ini berfungsi dalam menginisiasi sel-sel imunokompeten dalam menyerang nitrogen. Sitokin IL-1 merupakan kelompok sitokin urutan pertama yang berperan dalam respon imun untuk memperkuat pengaktifan limfosit Th oleh antigen presenting cell (APC). Sitokin proinflamasi IL-1 juga dikenal sebagai katabolit yang merupakan protein sitokin yang dikode oleh gen IL-1.

Fungsi sitokin IL-1 selain sebagai indikator inflamasi adalah bersama dengan TNF- α mengerahkan neutrofil dan monosit ke tempat inflamasi untuk menyingkirkan antigen atau stimulus terjadinya inflamasi, merangsang fagosit mononuklear untuk mensekresi IL-1, dan merangsang hipotalamus menginduksi panas. Induksi Cyclooxygenase-2 (COX-2) oleh sitokin IL-1 dalam sistem saraf pusat (SSP) ditemukan untuk berkontribusi hipersensitivitas nyeri inflamasi (Baratawidjaja dan Rengganis, 2010).

2.3 COX-2

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. COX-2 merupakan enzim yang berperan dalam mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Produk akhir dari COX-2 inilah yang berkontribusi terhadap berbagai faktor biologis dalam memicu pertumbuhan tumor. COX-2 akan menginduksi terjadinya angiogenesis melalui 3 produk dan metabolisme arakidonat yaitu : TXA₂, PGI₂ dan PGE₂ yang merangsang VEGF membentuk pembuluh darah baru (Baratawidjaja, 2010).

Aktivasi makrofag, serta ROS dan NOS dalam peranannya untuk menimbulkan inflamasi akan mengaktifkan Cyclooxygenase-2 (COX-2) memproduksi prostaglandin E₂ (PGE₂) yang akan diregulasi untuk mensintesis sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan mediator inflamasi. COX-2 diinduksi monosit, makrofag, dan sel endotel dalam perkembangannya dapat menyebabkan karsinogenesis.

2.4 DMBA (7,12 dimethyl benz (α) anthracene)

2.4.1 Definisi DMBA

Senyawa 7,12-dimethyl benz (α) anthracene (DMBA) adalah zat kimia yang termasuk dalam *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang dikenal bersifat mutagenik, teratogenik, karsinogenik, sitotoksik, dan immunosupresif. Secara alami DMBA dapat ditemukan di alam sebagai hasil dari proses pembakaran yang tidak sempurna, seperti dalam asap tembakau, asap pembakaran kayu, asap

pembakaran gas, bensin, minyak, batu bara atau daging. Senyawa DMBA dapat ditemukan didalam air, tanah maupun udara. Kontaminasi DMBA biasa terjadi melalui makanan atau per oral, inhalasi maupun kontak kulit. Senyawa ini juga dilaporkan sebagai karsinogen poten pada hewan coba, dengan target utama pada kulit dan glandula mammae. Dosis tinggi yang diberikan secara kronik pada hewan coba dapat menyebabkan nekrosis pada adrenal (Widyarini *dkk*, 2010).

Paparan DMBA mampu menginduksi produksi dari ROS yang menyebabkan peroksidasi lemak, kerusakan DNA, dan hilangnya sel yang memiliki sistem antioksidan. Paparan DMBA juga mampu menyebabkan perubahan patologi klinik melalui toksisitasnya pada kulit, kelanjar mammae, ginjal, dan hepar sehingga mampu menginduksi kerusakan parenkim hepatoceluler, hingga menyebabkan lesi pada hepar, tumor, serta kanker. Dosis tinggi DMBA yang diberikan secara kronik pada hewan coba dapat menyebabkan nekrosis pada adrenal (Cordeiro, 2011).

Senyawa DMBA diketahui lebih sering digunakan dalam pembuatan hewan coba kanker karena sifatnya yang mudah stabil dan memiliki potensi yang lebih tinggi sebagai zat karsinogenik. Senyawa DMBA juga mudah diabsorpsi melalui kulit, respiratori, dan juga saluran intestinal. Selain itu, DMBA juga mudah diinduksikan melalui intravena, intraperitonal, ingesti, dan inhalasi. Sensitifitas DMBA dalam memicu reaksi karsinogenik juga diketahui lebih tinggi dibandingkan zat-zat kimia lainnya. Senyawa DMBA juga diketahui sebagai zat karsinogen yang paling berpotensi dalam pembuatan kanker mammae dan kanker kulit (Cordeiro and Kaliwal, 2011).

2.4.2 Pengaruh Induksi DMBA

Senyawa *7,12-dimethyl benz (a) anthracene* (DMBA) sebagai inisiator pembentukan kanker mammae memerlukan aktivasi metabolik oleh enzim yang secara normal ada dalam tubuh, seperti sitokrom p450 dan merupakan bagian dari proses metabolisme xenobiotik. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom p-450 menjadi *intermediate* reaktif yang dapat merusak DNA, yaitu terbentuknya epoksida dehidrodriol dan kation radikal. Epoksida dehidrodriol akan mengikat gugus amino ekosiklik purin DNA secara kovalen menjadi bentuk *adduct* yang stabil, sedangkan kation radikal akan mengikat N7 atau C8 purin menjadi bentuk *adduct* tidak stabil yaitu depurinisasi menjadi tempat yang kehilangan purin pada DNA. Jalur epoksida dehidrodriol inilah yang bertanggung jawab terhadap inisiasi tumor karsinogenik DMBA dibanding bentuk kation radikal (Hendris dan Iswahyudi, 2013).

Metabolit DMBA *3,4 diol-1,2 epoxides* yang mampu membentuk DNA *adduct* merupakan metabolit aktif dari DMBA (Cordeiro, 2011). Metabolit tersebut menentukan mutasi dalam gen dan dapat mengendalikan siklus sel sehingga mendorong pembelahan sel kanker. Senyawa epoksida akan berikatan dengan gugus amino *eksosiklik deoksiadenosin* (dA) secara kovalen pada DNA. Interaksi ini dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan inisiasi kanker. Mutasi somatik disebabkan oleh *ultimate carcinogen* yang berikatan dengan DNA (Gillespie, 2012).

Pada kanker, DMBA akan bereaksi dengan sitokrom p-450 untuk membentuk ikatan kovalen dengan DNA sel yang aktif sehingga menyebabkan DNA *adduct*. DMBA akan dioksidasi oleh sitokrom p-450 CYP1B1 menjadi

DMBA 3,4 epoksida. Selanjutnya akan diikuti hidrolisis epoksida oleh enzim MEH menjadi metabolit *proximate carcinogen* DMBA-3,4-diol. Metabolit ini kemudian dioksidasi oleh CYP1A1 atau CYP1B1 menjadi metabolit *ultimate carcinogen* yaitu DMBA-3,4-diol-1,2-epoksida yang memiliki kemampuan membentuk DNA *adduct* (Hendris dan Iswahyudi, 2013). DNA *adduct* inilah yang merupakan proses awal munculnya kanker. DNA *adduct* sendiri merupakan DNA yang terikat pada suatu senyawa kimia karsinogenik yang menyebabkan terjadinya kerusakan pada DNA. Ketika DMBA berikatan dengan DNA, menyebabkan kerusakan yang terjadi pada DNA, dimana replikasi yang tepat dan sempurna untuk membentuk sel yang sempurna tidak terjadi (Kumari, *et al.*, 2008). Kegagalan replikasi tersebut, menyebabkan terjadinya mutasi atau proses mutagenesis dari sel dan tanpa adanya *DNA repair* yang benar hal ini dapat memicu inaktivasi dari gen-gen tertentu, salah satunya adalah *Tumor Supressor Gen* seperti p53. Gen p53 yang tidak berfungsi secara normal akan mengakibatkan perkembangbiakan dan pembelahan sel tidak terkendali sehingga proliferasi sel terjadi secara terus menerus dan menimbulkan kanker (Syaifudin, 2007).

DMBA menginduksi produksi *reactive oxygen spesies* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan DNA serta penurunan aktivitas sistem pertahanan antioksidan. Produksi yang berlebih dapat mengakibatkan stres oksidatif dan terjadi mutagenesis pada DNA dan karsinogenesis. Hal ini disebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh sehingga terjadi kerusakan sel yang ditandai adanya penurunan kadar antioksidan dalam tubuh. Peningkatan ROS didalam sel dapat merusak jaringan yang memicu terjadinya proses inflamasi. Pada proses ini maka dilepaskan sebagai mediator,

salah satunya adalah prostaglandin. Prostaglandin disintesis dari asam arakidonat sehingga timbul stimulus kimiawi, mediator inflamasi yakni adanya peran serta dari enzim Cyclooxygenase 1 dan 2 (COX₁ dan COX₂) yang terinduksi pada sel yang mengalami inflamasi (Baratawidjaja, 2010).

2.5 Pengaruh Kanker Mammae terhadap Ovarium

Kanker mammae diketahui memiliki hubungan erat dengan ovarium. Hewan yang terkena kanker mammae memiliki resiko besar untuk terkena kanker ovarium. Hubungan ini ditandai dengan adanya mutasi dari BRCA 1 dan BRCA 2 (Kelly *et al.*, 2005). Pasien yang menderita kanker mammae artinya mengalami mutasi pada gen BRCA 1 dan BRCA 2 yang mana dapat beresiko tinggi memungkinkan terkena kanker ovarium.

Hubungan resiko kanker mammae dengan adanya peningkatan level estrogen darah dapat dijumpai pada beberapa studi. Salah satunya yaitu studi pada hewan pengerat dapat dilihat bahwa estrogen atau metabolit merupakan karsinogen pada jaringan yang berbeda termasuk ginjal, hati, uterus, ovarium, dan kelenjar mammae. Oleh sebab itu, peningkatan hormon estrogen akibat kanker mammae selain memperparah terjadinya kanker mammae, juga dapat menimbulkan kemungkinan terjadinya kanker ovarium (Kirkegaard *et al.*, 2008).

2.6 Karkumin dan Vitamin E

Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa L*) dengan aktivitas biologi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Kurkumin merupakan senyawa polifenolik yang dapat memberikan

warna kuning dan merupakan senyawa yang memiliki aktivitas farmakologi, seperti melancarkan peredaran darah, memperlancar menstruasi, antiradang, antiseptik, dan juga antikanker. (Aggarwal *et al.*, 2005, Widjayakusuma, 2005).

Penelitian yang dilakukan Somasundaram *et al.*, (2003) membuktikan bahwa *curcumin* pada sel kanker mammae mampu menghambat *Reactive Oxygen Species (ROS)* yang akan menginduksi terjadinya apoptosis sampai 70%. Selain itu aktivitasnya sebagai antiinflamasi yaitu sebagai inhibitor enzim siklooksigenase memiliki kaitan dengan aktivitasnya sebagai antikanker. Selain itu kurkumin juga aktif dalam menghambat proses karsinogenesis pada tahap inisiasi dan promosi atau progesi (Nurrochmad, 2004). Beberapa penelitian membuktikan bahwa kurkumin dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dan menghambat aktivitas enzim oksidatif sitokrom P450 (Ahmad, 2006).

Vitamin E memiliki fungsi sebagai antioksidan. Selain itu, vitamin E juga sudah banyak dipakai untuk terapi - terapi kecantikan. Selain sebagai antioksidan, vitamin E juga berfungsi dalam meningkatkan ketahanan tubuh, serta meminimalkan resiko kanker dan penyakit jantung koroner. Vitamin E larut dalam lemak, tidak dapat disintesa oleh tubuh sehingga harus dikonsumsi dari makanan dan suplemen. Fungsi lain dari vitamin E dapat menstimulasi respon imunologi (Combs, 1998). Vitamin E mengandung senyawa *tocopherol*, yang dapat menghentikan produksi *Reactive Oxygen Species (ROS)* (Maslachah *dkk*, 2008).

Antioksidan dari vitamin E akan melindungi dari serangan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai atau oksidasi perusak. Selain itu vitamin E akan mencegah kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi dan unsur tubuh yang kaya lemak melawan oksidasi. Radikal bebas ini akan menyerang pertumbuhan sel,

termasuk DNA dan asam lemak tak jenuh. Ketika radikal bebas bereaksi dengan asam lemak tak jenuh, reaksi berantai mendorong terbentuknya radikal bebas dalam jumlah yang banyak. Radikal bebas dapat merusak baik struktur dan fungsi sel membran sehingga dapat menimbulkan respon karsinogen (Lamid, 1995). Penelitian sebelumnya telah dilakukan menggunakan vitamin E dengan dosis 400 IU/ekor dapat menurunkan kadar radikal bebas didalam tubuh.

Kombinasi dari kurkumin dengan vitamin E sangat potensial sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan alami polifenolik ini bersifat multifungsional dan dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas. Selain itu juga dapat menghambat aktivitas enzim oksidatif.

2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Tikus putih memiliki beberapa galur yang merupakan hasil pembiakkan sesama jenis atau persilangan seperti Wistar, Sprague Dawley, Madison, Wicoustin, dan Long Evans. Tikus putih termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang. Ciri-ciri galur ini yaitu bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus ini tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata tikus putih berwarna merah. Ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang panjang. Berat badan tikus jantan pada umur 12 minggu mencapai 240 g, sedangkan betinanya mencapai 200 g. Tikus putih memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun 9 dengan berat badan tikus jantan berkisar antara 267-500 g dan betina 225-325 g (Sirois, 2005).

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah

Rattus norvegicus strain *sprague-dawley* yang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Adiyati, 2011) :

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub filum : Vertebrata
Klass : Mammalia
Ordo : Rodentia
Sub Ordo : Sciurognathi
Familia : Muridae
Sub Familia : Murinae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*
Galur/Strain : *Sprague Dawley*

Hewan model kanker mammae umumnya menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley* dikarenakan memiliki beberapa keunggulan sehingga memudahkan dalam melakukan penelitian. Keunggulan tersebut menurut Ranasnita (2008) tikus *Sprague Dawley* mempunyai tubuh yang lebih besar dengan berat badan tikus betina antara 250-300 gram. Tikus *Sprague Dawley* lebih sensitif terhadap pembentukan tumor (Meiyanto dkk., 2007)