

**UJI INSILICO IKATAN ELLAGITANIN DALAM BENALU MANGGA
(*Dendrophthoe pentandra* (L.)) DENGAN PROTEIN KINASE A SEBAGAI
TERAPI KOMBINASI PADA SEL KANKER PAYUDARA (MCF-7)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

**Azizah Danniswara
NIM 145070107121011**

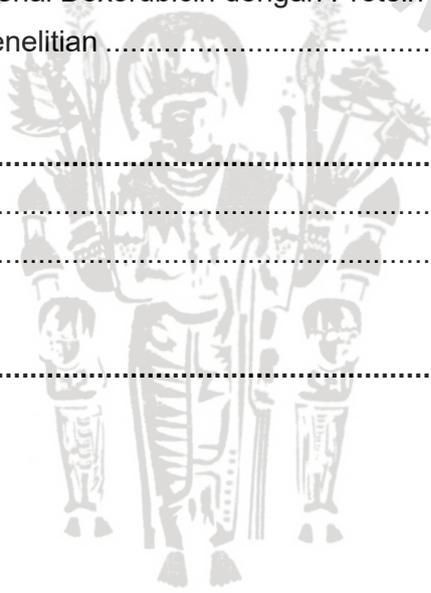
**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan.....	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak.....	vii
Abstract.....	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB 2 KAJIAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kanker.....	6
2.2 Kanker Payudara.....	6
2.2.2 Epidemiologi.....	7
2.2.3 Anatomi Payudara.....	7
2.2.4 Gambaran Histopatologis.....	8
2.2.5 Mekanisme Kanker Payudara.....	9
2.2.6 Klasifikasi Kanker Payudara.....	10
2.2.7 Faktor Resiko.....	11
2.2.8 Diagnosis.....	12
2.2.9 Skrining.....	17
2.2.10 Penatalaksanaan.....	24

2.2.11 Prognosis.....	28
2.3 Doxorubicin.....	29
2.3.1 Mekanisme Kerja Doxorubicin.....	30
2.4 Benalu Mangga.....	32
2.4.1 Klasifikasi.....	32
2.4.2 Kandungan Kimia Benalu Mangga.....	33
2.5 Tanin.....	33
2.5.1 Sifat-Sifat Tanin.....	34
2.5.2 Penggolongan Tanin.....	35
2.5.3 Manfaat Tanin.....	39
2.6 Protein Kinase A.....	39
2.6.1 Efek Overekspresi Protein Kinase A terhadap Doxorubicin.....	40
2.6.2 Mekanisme Protein Kinase A pada Sel Kanker Payudara.....	40
2.7 Metode Insilico.....	41
2.7.1 Metode Docking.....	41
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	43
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	43
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep.....	44
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	45
4.1 Rancangan Penelitian.....	45
4.2 Populasi dan Sampel.....	45
4.2.1 Populasi.....	45
4.2.2 Sampel.....	45
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	45
4.4 Identifikasi Variabel.....	46
4.4.1 Variabel Tergantung.....	46
4.4.2 Variabel Bebas.....	46
4.5 Definisi operasional.....	46
4.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	47
4.6.1 Alat untuk Penelitian.....	47
4.6.2 Bahan untuk Penelitian.....	47
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data.....	48
4.7.1 Prosedur Penelitian.....	48

4.8 Analisis Data	49
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	50
5.1 Hasil Penelitian	50
5.1.1 Hasil Docking Ellagitannin terhadap Protein Kinase A	50
5.2 Analisis Data	54
BAB 6 PEMBAHASAN	55
6.1 Hasil Docking Ellagitanin Dengan Protein Kinase A	55
6.2 Hasil Identifikasi Asam Amino dan Ikatan pada Ellagitanin dengan Protein Kinase A	56
6.3 Mekanisme Kerja Ellagitanin Terhadap Protein Kinase A pada Sel Kanker Payudara	57
6.4 Penelitian Mengenai Doxorubicin dengan Protein Kinase A	58
6.5 Keterbatasan Penelitian	58
BAB 7 PENUTUP	59
7.1 Kesimpulan	59
7.2 Saran	59
Daftar Pustaka	60



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 <i>TNM Staging System</i> untuk Breast Cancer.....	19
Tabel 5.1 Nilai <i>binding affinity</i> Ellagitannin-PKA dan Ellagitannin-Obat Kontrol.....	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Anatomi Payudara.....	8
Gambar 2.2 Histopatologis Kanker Payudara.....	9
Gambar 2.3 Struktur Doxorubicin.....	29
Gambar 2.4 Mekanisme Doxorubicin.....	30
Gambar 4.1 Ellagitanin sebelum di- <i>docking</i>	48
Gambar 4.2 PKA sebelum di- <i>docking</i>	48
Gambar 5.1 Hasil docking ikatan ellagitanin terhadap Protein Kinase A.....	52
Gambar 5.2 Hasil docking ikatan ellagitanin terhadap Obat Kontrol.....	52
Gambar 5.3 Hasil identifikasi ikatan hidrogen dan asam amino pada ikatan PKA dengan kontrol.....	53
Gambar 5.4 Hasil identifikasi ikatan hidrogen dan asam amino pada ikatan PKA dengan ellagitanin.....	53



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar senyawa sebelum di-docking.....67

Lampiran 2. Hasil Docking.....67

Lampiran 3. Gambar Ikatan Setelah di-docking.....68

Lampiran 4. Surat Keterangan Telah Melakukan Penelitian.....68



DAFTAR SINGKATAN

5-FU : 5-fluoro urasil

cAMP : *Cyclic adenosine monophosphate*

DNA : *deoxyribonucleic acid*

FNAB : *Fine Needle Aspiration Biopsy*

KGB : Kelenjar Getah Bening

MRI : Magnetic Resonance Imaging

MCF-7 : *Michigan Cancer Foundation-7*

PKA : Protein Kinase A

TNM : Tumor, Node, Metastase

USG : Ultrasonografi

WHO : World Health Organization



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI INSILICO IKATAN ELLAGITANIN DALAM BENALU MANGGA
(*Dendrophthoe pentandra* (L.)) DENGAN PROTEIN KINASE A
SEBAGAI TERAPI KOMBINASI PADA SEL KANKER PAYUDARA
(MCF-7)**

Oleh :

AZIZAH DANNISWARA
NIM 145070107121011

Telah diuji pada
Hari : Jumat
Tanggal : 16 Maret 2018
dan dinyatakan tulus oleh:

Penguji-I

dr. Hanggia Primadita, M.Kes., Sp.An.
NIK. 2016098209192001

Pembimbing I/Penguji-II,

Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D
NIP. 196908191998022001

Pembimbing II/Penguji-III,

dr. Dini Rachma Erawati, Sp.Rad(K)
NIK. 2013027701092001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,

dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Danniswara, A. 2018. **Uji Insilico Ikatan Ellagitannin Dalam Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra* (L.)) Dengan Protein Kinase A Sebagai Terapi Kombinasi Pada Sel Kanker Payudara (MCF-7) Secara In Silico**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Dini Rachma Erawati, Sp. Rad (K)

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dengan kasus tertinggi. Salah satu jenis tanin, yaitu ellagitannin dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* (L.)) diketahui memiliki aktivitas antikanker. Dalam kanker payudara terdapat protein kinase A yang memiliki peranan penting dalam kerja siklus sel. Maka dari itu dilakukan penelitian secara in silico untuk mengetahui ellagitannin sebagai protein kinase A inhibitor dan untuk mengetahui tanin dalam benalu mangga dapat bekerja sinergis sebagai kokemoterapi kanker payudara. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sekunder yang mengambil sampel dari database *pubchem*, yang bertujuan untuk mengetahui daya ikatan tanin dalam benalu mangga dengan protein kinase A pada permukaan membran yang nantinya akan berfungsi antikanker payudara. Penelitian ini dilakukan dengan metode molecular docking menggunakan software PyRX 0.8 untuk mengetahui binding affinity (afinitas ikatan) dan PyMOL 2.0.6 untuk melihat bentuk ikatan. Hasilnya diketahui bahwa binding affinity (afinitas ikatan) ellagitannin dengan protein kinase A sebesar -8,6 kcal/mol, dan dapat disimpulkan ellagitannin berpotensi sebagai protein kinase A inhibitor dan terapi kombinasi untuk kanker payudara. Berdasarkan penelitian ini, disarankan penelitian lebih lanjut secara in vitro maupun in vivo untuk mengetahui efek samping dari pemberian kombinasi doxorubicin dan tanin dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* (L.)) terhadap terapi kanker payudara.

Kata kunci : *tanin, ellagitannin, doxorubicin, daun benalu mangga (Dendrophthoe pentandra* (L.)), *protein kinase A*

ABSTRACT

Danniswara, A. 2018. ***Insillico Test on Ellagitannin Bonding Found in the Parasite of Mango (*Dendroptoe pentandra* (L.)) with Protein Kinase A as Combinational Therapeutic Agent on Breast Cancer Cell (MCF-7) through In Silico***. Thesis, Doctor Profession Study Program Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr. Dini Rachma Erawati, Sp. Rad (K)

Breast cancer is one type of cancer with the highest number of cases found. Ellagitannin, a type of tannin found in the parasite of mangoes (*Dendroptoe pentandra* (L.)), is proved to have anticancer activity. The protein kinase A found in breast cancer also plays an important role in the cell cycle. Therefore, an in silico experiment is done to find out the synergism between ellagitannin as protein kinase A inhibitor, and tannin in the parasite of mangoes as co-chemotherapy to breast cancer. This study is a secondary experimental study that takes samples from the *pubchem* database, and aims to find out the the bond between tannin found in the parasite of mango and protein kinase A in the membrane surface that will further be developed as breast anticancer agent. This research applies the molecular docking method with PyRX 0.8 software to discover the binding affinity, and PyMOL 2.0.6 to observe the form of the bond. The result shows a -8,6 kcal/mol binding affinity is found between ellagitannin and protein kinase A. Hence, it could be concluded that ellagitannin is capable of being the potential protein kinase A inhibitor and combinational therapeutic agent for curing breast cancer.

Keywords: *tannin, ellagitannin, doxorubicin, mango's parasite (*Dendroptoe pentandra* (L.)), protein kinase A*

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah salah satu penyebab kematian paling tinggi di dunia setelah penyakit kardiovaskular. Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang paling ditakuti karena sulit disembuhkan. Menurut *World Health Organization*, prevalensi kematian pada pasien kanker di Indonesia mencapai 1.551.000 orang pada tahun 2014, sedangkan secara nasional prevalensi penyakit kanker pada penduduk semua umur tahun 2013 sebesar 1,4% atau diperkirakan sekitar 347.792 orang.

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang paling menyebabkan kematian setiap tahunnya. (Kementerian Kesehatan RI, 2015). Menurut data dari GLOBOCAN, *International Agency for Research on Cancer* (IARC), diketahui pada tahun 2012 kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker dengan kasus tertinggi, yaitu 43,3%. Kanker payudara juga merupakan penyebab kematian (setelah dikontrol dengan umur) tertinggi akibat kanker pada perempuan, yaitu 12,9%.

Salah satu terapi kanker yang paling sering dilakukan adalah kemoterapi. Kemoterapi adalah cara pengobatan dengan menggunakan senyawa kimia yang bekerja langsung pada sel kanker. Salah satu agen kemoterapi pada kanker payudara adalah Doxorubicin. Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan sebagai terapi berbagai macam jenis kanker seperti leukemia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium (Childs et al., 2002). Namun pada penggunaannya, kegagalan sering terjadi dalam usaha

pengobatan kanker, utamanya dalam kemoterapi, lebih dikarenakan rendahnya selektifitas obat-obat anti kanker dan sensitivitas sel kanker itu sendiri terhadap agen kemoterapi, juga tidak spesifiknya target terapi oleh senyawa yang digunakan untuk kemoterapi, mengakibatkan ikut sertanya sel yang masih sehat dan aktif menjadi apoptosis. (Da'i dan D.K., 2014)

Doxorubicin dapat menyebabkan kardi toksisitas pada penggunaan jangka panjang, hal itu menyebabkan penggunaannya secara klinis menjadi terbatas. Efek samping pada pemakaian kronisnya bersifat ireversibel, termasuk terbentuknya *cardiomyopathy* dan *congestive heart failure* (Han et al., 2008).

Umumnya doxorubicin digunakan dalam bentuk kombinasi dengan agen antikanker lainnya seperti siklofosamid, cisplatin dan 5-FU. Peningkatan respon klinis dan pengurangan efek samping cenderung lebih baik pada penggunaan kombinasi dengan agen lain dibandingkan penggunaan doxorubicin tunggal (Bruton et al., 2005). Oleh karena itu pengembangan agen antikanker dengan efek samping yang rendah maupun agen kombinasi yang dapat menurunkan efek samping doxorubicin masih perlu terus diupayakan.

Benalu mangga adalah tanaman yang diklasifikasi sebagai parasit yang menempel pada pohon mangga. Tumbuhan ini tersebar di beberapa negara di Asia Tenggara, seperti Malaysia, Filipina, Thailand, Vietnam, Kamboja, termasuk Indonesia dan di beberapa daerah lain seperti daerah India Timur, Guangdong, Guangxi dan Yunnan. Benalu mangga berada dalam kelompok Loranthaceae, kelompok parasit ini awalnya dianggap tidak bermanfaat, hal ini berkaitan dengan sifat parasit benalu yang dapat merusak tanaman inang. Namun, spesies dari famili *Loranthaceae* telah dilaporkan memiliki efek sebagai

obat kanker (Tyas, 2011), kemoprevensi, agen pendamping kemoterapi, antiinflamasi (Ikawati dkk., 2008) dan memiliki efek respon imunobiologi (Sitompul dan Debora, 2016). Bahan kimia yang terdapat dalam benalu adalah flavonoid, tanin, asam amino, karbohidrat, alkaloid dan saponin (Ikawati dkk., 2008).

Salah satu kandungan kimia dalam benalu mangga adalah tanin. Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein.

Tanin dalam benalu mangga diketahui memiliki aktivitas anti kanker. Salah satu jenis tanin, yaitu ellagitanin yang diketahui berperan dalam aktivitas anti-kanker.

Aktivitas anti-kanker suatu tanin terjadi melalui mekanisme penghambatan kerja enzim, pencegahan proses mutagenesis yang dapat menimbulkan kanker, dan pengaktifan makrofag sel kanker. (Ikawati dkk., 2008)

Protein kinase A merupakan protein yang saling tergantung dengan cAMP. cAMP merupakan kependekan dari *Cyclic adenosine monophosphate*, yang memiliki peran dalam siklus sel. cAMP saling berhubungan dengan protein kinase A agar siklus sel dapat terjadi, termasuk pada siklus sel kanker. Protein kinase A diketahui mengalami overekspresi pada sel kanker manusia, termasuk sel kanker payudara (Tortora and Ciardiello, 2002). Sehingga dibutuhkan inhibitor yang dapat menghambat overekspresi.

Salah satu jenis tanin, yaitu ellagitanin diketahui dapat digunakan sebagai protein kinase A inhibitor yang potensial. Hal itu telah dibuktikan pada penelitian in vitro oleh Seiji Kosuge, dkk (2001) bahwa ID50 ellagitanin terhadap protein kinase A lebih tinggi daripada jenis tanin lainnya yaitu euginin dan sanguin. Namun

penelitian in silico mengenai ikatan ellagitanin terhadap protein kinase A belum diteliti.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat ikatan antara ellagitanin dalam benalu mangga (*Dendrothoe pentandra* (L.)) dengan reseptor sel kanker payudara?
2. Berapakah afinitas ikatan ellagitanin dalam benalu mangga (*Dendrothoe pentandra* (L.)) terhadap protein kinase A secara insilico?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui ellagitanin dalam benalu mangga (*Dendrothoe pentandra* (L.)) dapat berikatan dengan protein kinase A dan mampu bekerja sebagai agen antikanker.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan ikatan ellagitanin terhadap protein kinase A pada sel kanker payudara secara insilico.
2. Mengetahui afinitas ikatan ellagitanin terhadap protein kinase A pada sel kanker payudara secara insilico.

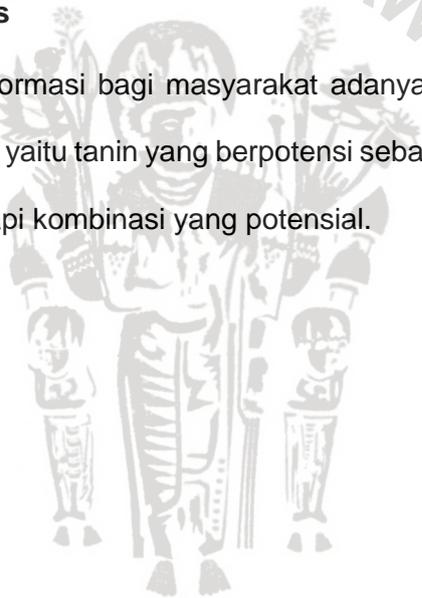
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Memperluas pengetahuan akan kandungan kimia dalam ekstrak benalu mangga yaitu ellagitanin yang memiliki hubungan ikatan yang baik terhadap terhadap Protein Kinase A dalam sel MCF-7 secara *in silico* untuk diteliti lebih lanjut dengan metode *in vitro* maupun *in vivo*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi bagi masyarakat adanya kandungan kimia dalam ekstrak benalu mangga yaitu tanin yang berpotensi sebagai anti kanker agar dapat digunakan sebagai terapi kombinasi yang potensial.



BAB 2

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Menurut WHO, kanker adalah istilah umum untuk satu kelompok besar penyakit yang dapat mempengaruhi setiap bagian dari tubuh. Istilah lain yang digunakan adalah tumor ganas dan neoplasma. Salah satu fitur mendefinisikan kanker adalah pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal yang tumbuh melampaui batas normal, dan yang kemudian dapat menyerang bagian sebelah tubuh dan menyebar ke organ lain.

Kanker bukan kelainan tunggal, tetapi merupakan suatu istilah untuk menggambarkan bentuk yang lebih ganas dari neoplasia, yaitu suatu proses penyakit yang memiliki karakteristik proliferasi (pembelahan) yang tak terkontrol dan menyebabkan terbentuknya suatu massa atau tumor. Suatu neoplasia akan berubah menjadi kanker apabila bersifat maligna/ganas, artinya pertumbuhannya tidak lagi terkendali dan tumor tumbuh langsung di jaringan didekatnya (invasi), menyebar (metastase) ke tempat yang lebih jauh atau keduanya. (tumor yang tidak bermetastase tidak dapat disebut kanker, tetapi disebut tumor jinak) (Nussbaum, *et al.*, 2001).

2.2 Kanker Payudara

2.2.1 Pengertian Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan kondisi payudara dimana pertumbuhan sel yang terjadi merusak jaringan payudara dan mengganggu jaringan yang lain.

Sebagian besar tumor payudara terdeteksi oleh mamografi adalah tumor jinak

(*benign*). Pertumbuhan tumor jinak yang tidak bersifat kanker tersebut tidak menyebar di luar payudara ke organ lainnya. (Stanford Cancer Institute, 2017).

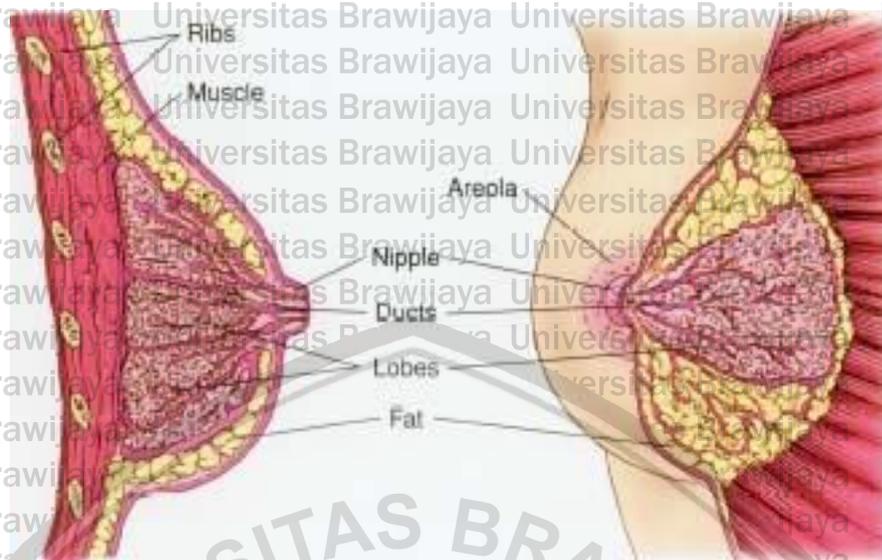
Dalam beberapa kasus sulit untuk membedakan *benign* dengan ganas (*malignant*) dengan mammografi. Jika sel ganas tidak melalui membran basal dan menyebar ke jaringan sekitarnya, hal ini disebut *in situ* atau *non-invasive*. Jika kanker tersebut telah melewati membran basal dan menyebar ke jaringan sekitarnya, hal tersebut disebut *invasive* (Raad, et al. 2012).

2.2.2 Epidemiologi

Kanker payudara adalah keganasan paling umum pada wanita di seluruh dunia. Informasi tentang kejadian dan kematian kanker payudara sangat penting untuk perencanaan tindakan kesehatan. Menurut data yang diperoleh dari proyek kanker global (GLOBOCAN 2012) diperkirakan 1.671.149 kasus baru kanker payudara diidentifikasi dan 521.907 kasus kematian akibat kanker payudara terjadi di dunia pada tahun 2012. Menurut GLOBOCAN, kanker payudara merupakan kanker yang paling umum terjadi pada wanita yang mencakup 25,1% dari semua jenis kanker. Kejadian kanker payudara di negara maju lebih tinggi, sementara angka kematian relatif terbesar di negara-negara kurang berkembang (Ghoncheh M et al., 2016).

2.2.3 Anatomi Payudara

Payudara pada perempuan sebagian besar terdiri dari *lobules*, *ducts*, dan *stroma*. Setiap payudara memuat antara 15 – 25 *lobes* yang terhubung pada puting melalui *ducts*. Setiap *lobe* tersusun atas banyak *lobules*.

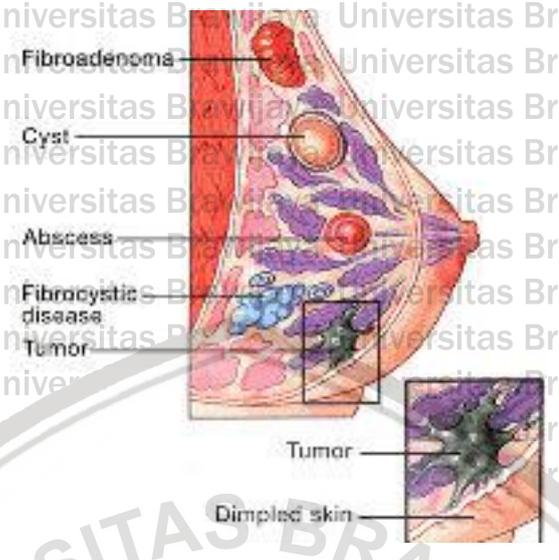


Gambar 2.1 Anatomi Payudara

- i. *Lobules* merupakan kelenjar yang memproduksi susu.
- ii. *Ducts* merupakan pipa kecil yang membawa susu dari *lobules* menuju puting.
- iii. *Stroma* merupakan jaringan lemak dan jaringan penghubung sekeliling *ducts* dan *lobules*, seperti pembuluh darah dan pembuluh limfa. (Raad, et al. 2012).

2.2.4 Gambaran Histopatologis

Pada kasus kanker payudara usia muda gambaran histopatologis yang dominan adalah karsinoma duktal invasif tipe tidak spesifik dengan batas tumor yang tidak tegas, terdapat invasi ke pembuluh darah, pembuluh limfe dan sangat sedikit kasus ditemukan karsinoma duktal in situ. Gambaran lain yang memungkinkan seperti halnya karsinoma lobular invasif, tumor filoides malignan dan jenis karsinoma lainnya (M. Batori et al., 2006)



Gambar 2.2 Histopatologis Kanker Payudara

2.2.5 Mekanisme Kanker Payudara

Mekanisme molekuler yang mempengaruhi risiko terjadinya kanker payudara dan progresi dari penyakit ini belum diketahui secara pasti namun aktivasi onkogen yang disebabkan oleh modifikasi genetik (mutasi, amplifikasi atau penyusunan ulang kromosomal) atau oleh modifikasi epigenetik (ekspresi berlebihan) dilaporkan mampu mengarahkan pada terjadinya multiplikasi dan migrasi sel. Beberapa onkogen telah diketahui mempengaruhi karsinogenesis kanker payudara, diantaranya *Ras*, *c-myc*, *epidermal growth factor receptor* (EGFR, erb-B1), dan erb-B2 (HER-2/neu) (Greenwald, 2002). Perubahan ekspresi maupun fungsi dari gen supresor tumor seperti *BRCA1*, *BRCA2* dan *p53* tidak sepenuhnya bertanggung jawab dalam tingginya prevalensi kanker payudara spontan. Mutasi atau ketiadaan *BRCA1* terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi *p53* terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara (Bouker et al., 2005).

2.2.6 Klasifikasi Kanker Payudara

Ada beberapa tipe kanker payudara, yaitu:

a. *Ductal carcinoma in situ* (DCIS)

DCIS diartikan dengan munculnya sel-sel abnormal yang melapisi saluran payudara tanpa adanya pertumbuhan di sepanjang dinding duktus hingga jaringan payudara sehingga disebut juga kanker payudara non-invasif.

b. *Invasive ductal carcinoma* (IDC)

IDC merupakan kanker payudara yang paling umum. Sel yang melapisi saluran payudara mengalami abnormal, kemudian sel-sel abnormal tersebut menerobos dinding duktus dan menyerang jaringan payudara sehingga sel-sel kanker dapat menyebar ke kelenjar getah bening terdekat atau bagian lain dari tubuh.

c. *Invasive lobular carcinoma* (ILC)

Kanker mulai terjadi pada sel-sel yang melapisi kelenjar susu (lobulus). Sel-sel abnormal tumbuh melalui dinding lobulus, kemudian dapat menyebar ke kelenjar getah bening terdekat atau bagian lain dari tubuh.

d. *Inflammatory breast cancer* (IBC)

IBC merupakan tipe yang jarang ditemui dari kanker payudara invasif. Pada penderita IBC, tidak ditemui benjolan tunggal atau tumor. Akan tetapi, kulit payudara terlihat merah, lebih tebal, dan terasa hangat

(*American Cancer Society*, 2017)

2.2.7 Faktor Resiko

a. Jenis Kelamin

Payudara pada pria maupun wanita memiliki sifat yang sama, tetapi tingkat pertumbuhan payudara pada perempuan lebih tinggi dibandingkan dengan pria. Hal tersebut disebabkan karena pertumbuhan payudara pada wanita dipengaruhi oleh hormon *estrogen* dan *progesterone*. Oleh karena itu, wanita memiliki tingkat resiko terkena kanker payudara lebih tinggi dibandingkan pria.

b. Usia

Resiko terkena kanker payudara sebanding dengan meningkatnya usia. Wanita yang berusia kurang dari empat puluh tahun beresiko lebih kecil dibandingkan wanita berusia enam puluh tahun keatas.

c. Faktor Genetik

Sekitar 5 – 10% kasus kanker payudara diturunkan secara hereditas. Hal tersebut disebabkan mutasi gen yang diturunkan oleh orang tua. Mutasi warisan pada BRCA1 atau BRCA2 yang biasanya menjadi penyebab kanker payudara keturunan. Wanita dengan mutasi BRCA beresiko tinggi terkena kanker payudara selama hidupnya. Sementara itu, mutasi pada gen lain memiliki resiko rendah terkena kanker payudara keturunan.

d. Riwayat Keluarga Kanker Payudara

Resiko terkena kanker payudara pada wanita yang memiliki riwayat anggota keluarga terkena kanker lebih tinggi dibandingkan dengan wanita yang tidak memiliki riwayat kanker pada keluarganya.

(American Cancer Society, 2017)

2.2.8 Diagnosis

a. Gejala

Gejala yang paling sering antara lain :

1. Penderita merasakan adanya perubahan pada payudara atau pada puting susunya

a. Benjolan atau penebalan dalam atau sekitar payudara atau di daerah ketiak

b. Puting susu terasa mengeras

2. Penderita melihat perubahan pada payudara atau pada puting susunya

a. Perubahan ukuran maupun bentuk dari payudara

b. Puting susu tertarik ke dalam payudara

c. Kulit payudara, areola, atau puting bersisik, merah, atau bengkak.

Kulit mungkin berkerut-kerut seperti kulit jeruk.

3. Keluarnya sekret atau cairan dari puting susu

Pada awal kanker payudara biasanya penderita tidak merasakan nyeri. Bila sel kanker telah menyebar, biasanya sel kanker bisa ditemukan di kelenjar limfe yang berada di sekitar payudara. Sel kanker juga bisa menyebar ke berbagai bagian tubuh lain, paling sering ke tulang, hati, paru-paru, dan otak.

Pada 33% kasus kanker payudara, penderita menemukan benjolan pada payudaranya. Tanda dan gejala lain dari kanker payudara yang jarang ditemukan antara lain pembesaran atau asimetrisnya payudara, perubahan pada puting susu dapat berupa retraksi atau keluar sekret, ulserasi atau eritema kulit payudara, massa di ketiak, ketidaknyamanan muskuloskeletal. 50% wanita dengan kanker payudara tidak mempunyai gejala apapun. Nyeri pada payudara biasanya berhubungan dengan kelainan yang bersifat jinak. (American Cancer Society, 2017)

b. Pemeriksaan fisik

1. Inspeksi

Inspkesi bentuk, ukuran, dan simetris dari kedua payudara, apakah terdapat edema (peau d'orange), retraksi kulit, atau puting susu, dan eritema.

2. Palpasi

Palpasi dilakukan pada payudara apakah terdapat massa, termasuk palpasi kelenjar limfe di aksila, supraklavikula, dan parasternal. Setiap massa yang teraba atau suatu lymphadenopathy, harus dinilai lokasinya, ukurannya, konsistensinya, bentuk, mobilitas atau fiksasinya.

c. Pemeriksaan penunjang

1. Mammografi

Mammografi merupakan pemeriksaan yang paling dapat diandalkan untuk mendeteksi kanker payudara sebelum benjolan atau massa dapat dipalpasi.

Karsinoma yang tumbuh lambat dapat diidentifikasi dengan mammografi setidaknya 2 tahun sebelum mencapai ukuran yang dapat dideteksi melalui palpasi.

Mammografi telah digunakan di Amerika Utara sejak tahun 1960 dan teknik ini terus dimodifikasi dan diimprovisasi untuk meningkatkan kualitas gambarnya.

Mammografi konvensional menyalurkan dosis radiasi sebesar 0,1 sentigray (cGy)

setiap penggunaannya. Sebagai perbandingan, Foto X-ray thoraks menyalurkan 25% dari dosis radiasi mammografi. Mammografi dapat digunakan baik sebagai

skrining maupun diagnostik. Mammografi mempunyai 2 jenis gambaran, yaitu kraniokaudal (CC) dan oblik mediolateral (MLO). MLO memberikan gambaran

jaringan mammae yang lebih luas, termasuk kuadran lateral atas dan axillary tail of Spence. Dibandingkan dengan MLO, CC memberikan visualisasi yang lebih

baik pada aspek medial dan memungkinkan kompresi payudara yang lebih besar.

Radiologis yang berpengalaman dapat mendeteksi karsinoma payudara dengan tingkat false-positive sebesar 10% dan false-negative sebesar 7%.

Gambaran mammografi yang spesifik untuk karsinoma mammae antara lain massa padat dengan atau tanpa gambaran seperti bintang (stellate), penebalan

asimetris jaringan mammae dan kumpulan mikrokalsifikasi. Gambaran mikrokalsifikasi ini merupakan tanda penting karsinoma pada wanita muda, yang

mungkin merupakan satu-satunya kelainan mammografi yang ada. Mammografi lebih akurat daripada pemeriksaan klinis untuk deteksi karsinoma mammae

stadium awal, dengan tingkat akurasi sebesar 90%. Protokol saat ini berdasarkan National Cancer Center Network (NCCN) menyarankan bahwa setiap wanita

diatas 20 tahun harus dilakukan pemeriksaan payudara setiap 3 tahun. Pada usia di atas 40 tahun, pemeriksaan payudara dilakukan setiap tahun disertai dengan

pemeriksaan mammografi. Pada suatu penelitian atas screening mammography,

menunjukkan reduksi sebesar 40% terhadap karsinoma mammae stadium II, III dan IV pada populasi yang dilakukan skrining dengan mammografi.

2. Ultrasonografi (USG)

Penggunaan USG merupakan pemeriksaan penunjang yang penting untuk membantu hasil mammografi yang tidak jelas atau meragukan, baik digunakan untuk menentukan massa yang kistik atau massa yang padat. Pada pemeriksaan dengan USG, kista mammae mempunyai gambaran dengan batas yang tegas dengan batas yang halus dan daerah bebas echo di bagian tengahnya. Massa payudara jinak biasanya menunjukkan kontur yang halus, berbentuk oval atau bulat, echo yang lemah di bagian sentral dengan batas yang tegas. Karsinoma mammae disertai dengan dinding yang tidak beraturan, tetapi dapat juga berbatas tegas dengan peningkatan akustik. USG juga digunakan untuk mengarahkan fine-needle aspiration biopsy (FNAB), core-needle biopsy dan lokalisasi jarum pada lesi payudara. USG merupakan pemeriksaan yang praktis dan sangat dapat diterima oleh pasien tetapi tidak dapat mendeteksi lesi dengan diameter ≤ 1 cm.

3. Magnetic Resonance Imaging (MRI)

Sebagai alat diagnostik tambahan atas kelainan yang didapatkan pada mammografi, lesi payudara lain dapat dideteksi. Akan tetapi, jika pada pemeriksaan klinis dan mammografi tidak didapat kelainan, maka kemungkinan untuk mendiagnosis karsinoma mammae sangat kecil.

MRI sangat sensitif tetapi tidak spesifik dan tidak seharusnya digunakan untuk skrining. Sebagai contoh, MRI berguna dalam membedakan karsinoma mammae yang rekuren atau jaringan parut. MRI juga bermanfaat dalam

memeriksa mammae kontralateral pada wanita dengan karsinoma payudara, menentukan penyebaran dari karsinoma terutama karsinoma lobuler atau menentukan respon terhadap kemoterapi neoadjuvan.

4. Biopsi

Fine-needle aspiration biopsy (FNAB) dilanjutkan dengan pemeriksaan sitologi merupakan cara praktis dan lebih murah daripada biopsi eksisional dengan resiko yang rendah. Teknik ini memerlukan patologis yang ahli dalam diagnosis sitologi dari karsinoma mammae dan juga dalam masalah pengambilan sampel, karena lesi yang dalam mungkin terlewatkan. Insidensi false-positive dalam diagnosis adalah sangat rendah, sekitar 1-2% dan tingkat false-negative sebesar 10%. Kebanyakan klinisi yang berpengalaman tidak akan menghiraukan massa dominan yang mencurigakan jika hasil sitologi FNAB adalah negatif, kecuali secara klinis, pencitraan dan pemeriksaan sitologi semuanya menunjukkan hasil negatif.

Large-needle (core-needle) biopsy mengambil bagian sentral atau inti jaringan dengan jarum yang besar. Alat biopsi genggam membuat large-core needle biopsy dari massa yang dapat dipalpasi menjadi mudah dilakukan di klinik dan cost-effective dengan anestesi lokal.

Open biopsy dengan lokal anestesi sebagai prosedur awal sebelum memutuskan tindakan definitif merupakan cara diagnosis yang paling dapat dipercaya. FNAB atau core-needle biopsy, ketika hasilnya positif, memberikan hasil yang cepat dengan biaya dan resiko yang rendah, tetapi ketika hasilnya negatif maka harus dilanjutkan dengan open biopsy. Open biopsy dapat berupa biopsy insisional atau biopsi eksisional. Pada biopsi insisional mengambil

sebagian massa payudara yang dicurigai, dilakukan bila tidak tersedianya core-needle biopsy atau massa tersebut hanya menunjukkan gambaran DCIS saja atau klinis curiga suatu inflammatory carcinoma tetapi tidak tersedia core-needle biopsy. Pada biopsi eksisional, seluruh massa payudara diambil.

5. Biomarker

Biomarker karsinoma mammae terdiri dari beberapa jenis. Biomarker sebagai salah satu faktor yang meningkatkan resiko karsinoma mammae. Biomarker ini mewakili gangguan biologik pada jaringan yang terjadi antara inisiasi dan perkembangan karsinoma. Biomarker ini digunakan sebagai hasil akhir dalam penelitian kempreventif jangka pendek dan termasuk perubahan histologis, indeks dari proliferasi dan gangguan genetik yang mengarah pada karsinoma. Nilai prognostik dan prediktif dari biomarker untuk karsinoma mammae antara lain (1) petanda proliferasi seperti *proliferating cell nuclear antigen* (PNCA), BrUdr dan Ki-67; (2) petanda apoptosis seperti bcl-2 dan rasio bax:bcl-2; (3) petanda angiogenesis seperti vascular endothelial growth factor (VEGF) dan indeks angiogenesis; (4) *growth factors* dan *growth factor receptors* seperti *human epidermal growth receptor* (HER)-2/neu dan *epidermal growth factor receptor* (EGFr) dan (5) p53.

2.2.9 Skrining

Rekomendasi untuk deteksi kanker payudara dini menurut American Cancer Society (2017) :

- Wanita berumur ≥ 40 tahun harus melakukan screening mammogram secara terus-menerus selama mereka dalam keadaan sehat, dianjurkan setiap tahun.

- Wanita berumur 20-30 tahun harus melakukan pemeriksaan klinis payudara (termasuk mammogram) sebagai bagian dari pemeriksaan kesehatan yang periodik oleh dokter, dianjurkan setiap 3 tahun.
- Setiap wanita dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan payudara sendiri mulai umur 20 tahun. Untuk kemudian melakukan konsultasi ke dokter bila menemukan kelainan.
- Wanita yang berisiko tinggi (>20%) harus melakukan pemeriksaan MRI dan mammogram setiap tahun.
- Wanita yang risiko sedang (15-20%) harus melakukan mammogram setiap tahun, dan konsultasi ke dokter apakah perlu disertai pemeriksaan MRI atau tidak.
- Wanita yang risiko rendah (<15%) tidak perlu pemeriksaan MRI periodik tiap tahun.
- Wanita termasuk risiko tinggi bila :
 - mempunyai gen mutasi dari BRCA1 atau BRCA2
 - mempunyai kerabat dekat tingkat pertama (orang tua, kakak-adik) yang memiliki gen mutasi dari BRCA1 atau BRCA2 tetapi belum pernah melakukan pemeriksaan genetik
 - mempunyai risiko kanker $\geq 20-25\%$ menurut penilaian faktor risiko terutama berdasarkan riwayat keluarga
 - pernah mendapat radioterapi pada dinding dada saat umur 10-30 tahun
 - mempunyai Li-Fraumeni syndrome, Cowden syndrome, atau Bannayan- Riley-Ruvalcaba syndrome, atau ada kerabat dekat tingkat pertama memiliki salah satu sindrom-sindrom ini.

- Wanita dengan risiko sedang bila :
 - mempunyai risiko kanker 15-20% menurut penilaian faktor risiko terutama berdasarkan riwayat keluarga
 - mempunyai riwayat kanker pada satu payudara, ductal carcinoma in situ (DCIS), lobular carcinoma in situ (LCIS), atypical ductal hyperplasia (ADH), atau atypical lobular hyperplasia (ALH)
 - mempunyai kepadatan yang tidak merata atau berlebihan terlihat pada pemeriksaan mammogram

Tabel 2.1 TNM Staging System untuk Breast Cancer

Tumor Primer (T)	
TX	Tumor primer tidak dapat dinilai
T0	Tidak ada bukti terdapat tumor primer
Tis	Carcinoma in situ
Tis(DCIS)	Ductal carcinoma in situ
Tis(LCIS)	Lobular carcinoma in situ
Tis(Paget's)	Paget's disease dari papilla mammae tanpa tumor (Catatan : Paget's disease yang berhubungan dengan tumor diklasifikasikan menurut ukuran tumor)
T1	Tumor \leq 2 cm
T1mic	Microinvasion \leq 0.1
T1a	Tumor $>$ 0.1 cm tetapi tidak lebih dari 0.5 cm
T1b	Tumor $>$ 0.5 cm tetapi tidak lebih dari 1 cm
T1c	Tumor $>$ 1 tetapi tidak lebih dari 2 cm

T2	Tumor > 2 cm tetapi tidak lebih dari 5 cm
T3	Tumor > 5 cm
T4	Tumor ukuran berapapun dengan perluasan langsung ke dinding dada atau kulit, seperti yang diuraikan dibawah ini :
T4a	Perluasan ke dinding dada, tidak melibatkan otot pectoralis
T4b	Edema (termasuk peau d'orange), atau ulserasi kulit [ayudara, atau ada nodul satelit terbatas di kulit payudara yang sama
T4c	Kriteria T4a dan T4b
T4d	Inflammatory carcinoma
Kelenjar Getah Bening—Klinis (N)	
NX	KGB regional tidak dapat dinilai (misalnya sebelumnya telah diangkat)
N0	Tidak ada metastasis ke KGB regional
N1	Metastasis ke KGB aksilla ipsilateral tetapi dapat digerakkan
N2	Metastasis KGB aksilla ipsilateral tetapi tidak dapat digerakkan atau terfiksasi, atau tampak secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral tetapi secara klinis tidak terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla ipsilateral
N2a	Metastasis ke KGB aksilla ipsilateral dengan KGB saling melekat atau melekat ke struktur lain sekitarnya.
N2b	Metastasis hanya tampak secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral dan tidak terbukti secara klinis terdapat metastasis ke KGB aksilla ipsilateral

N3	Metastasis ke KGB infraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB aksilla, atau secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral tetapi secara klinis terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla ipsilateral; atau metastasis ke KGB supraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB infraklavikula atau aksilla ipsilateral
N3a	Metastasis ke KGB infraklavikula ipsilateral
N3b	Metastasis ke KGB internal mammary dan aksilla
N3c	Metastasis ke KGB supraklavikula ipsilateral
Kelenjar Getah Bening Regional—Patologia anatomi (pN)	
pNX	KGB regional tidak dapat dinilai (sebelumnya telah diangkat atau tidak dilakukan pemeriksaan patologi)
pN0 ^b	Secara histologis tidak terdapat metastasis ke KGB, tidak ada pemeriksaan tambahan untuk isolated tumor cells (Catatan : Isolated tumor cells (ITC) diartikan sebagai sekelompok tumor kecil yang tidak lebih dari 0.2 mm, biasanya dideteksi hanya dengan immunohistochemical (IHC) atau metode molekuler
pN0(i-)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, IHC (-)
pN0(i+)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, IHC (+), IHC cluster tidak lebih dari 0.2 mm
pN0(mol-)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, pemeriksaan molekuler (-) (RT-PCR)
pN0(mol+)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, pemeriksaan molekuler (+) (RT-PCR)
pN1	Metastasis ke 1-3 KGB aksilla, dan atau KGB internal mammary

	terdeteksi secara mikroskopis melalui diseksi sentinel KGB, secara klinis tidak tampak
pN1mi	Micrometastasis (> 0.2 mm, < 2.0 mm)
pN1a	Metastasis ke 1-3 KGB aksila
pN1b	Metastasis ke KGB internal mammary terdeteksi secara mikroskopis melalui diseksi sentinel KGB, secara klinis tidak tampak
pN1c	Metastasis ke 1-3 KGB aksila dan ke KGB internal mammary terdeteksi secara mikroskopis melalui diseksi sentinel KGB, secara klinis tidak tampak (jika berhubungan dengan >3 (+) KGB aksila, KGB internal mammary diklasifikasikan sebagai pN3b)
pN2	Metastasis ke 4-9 KGB aksila, atau tampak secara klinis ke KGB internal mammary tetapi secara klinis tidak terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla
pN2a	Metastasis ke 4-9 KGB aksila (sedikitnya 1 tumor > 2 mm)
pN2b	tampak secara klinis ke KGB internal mammary tetapi secara klinis tidak terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla
pN3	Metastasis ke 10 KGB aksila, atau KGB infraklavikula, atau secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral dan terdapat 1 atau lebih metastasis ke KGB aksilla atau > 3 metastasis ke KGB aksilla tetapi secara klinis microscopic metastasis (-) ke KGB internal mammary; atau ke KGB supraklavikular ipsilateral
pN3a	Metastasis ke ≥10 KGB aksila (minimal 1 tumor > 2 mm), atau metastasis ke KGB infraklavikula

pN3b	Secara klinis metastasis ke KGB internal mammary ipsilateral dan terdapat 1 atau lebih metastasis ke KGB aksilla atau > 3 metastasis ke KGB aksilla dan dalam KGB internal mammary dengan kelainan mikroskopis yang terdeteksi melalui diseksi KGB sentinel, tidak tampak secara klinis
------	---

pN3c	Metastasis ke KGB supraklavikular ipsilateral
------	---

Metastasis Jauh (M)	
----------------------------	--

MX	Metastasis jauh tidak dapat dinilai
----	-------------------------------------

M0	Tidak terdapat metastasis jauh
----	--------------------------------

M1	Terdapat metastasis jauh
----	--------------------------

Tampak secara klinis didefinisikan bahwa dapat dideteksi melalui alat pencitraan atau dengan pemeriksaan klinis atau kelainan patologis terlihat jelas.

Tidak tampak secara klinis berarti tidak terlihat melalui alat pencitraan (kecuali dengan lymphoscintigraphy) atau dengan pemeriksaan klinis.

Klasifikasi berdasarkan diseksi KGB aksilla dengan atau tanpa diseksi sentinel dari KGB. Klasifikasi semata-mata berdasarkan diseksi sentinel KGB tanpa diseksi KGB aksilla yang selanjutnya direncanakan untuk "sentinel node", seperti pN-(I+) (sn).

RT-PCR = reverse transcriptase polymerase chain reaction.

SOURCE: Modified with permission from American Joint Committee on Cancer:

AJCC Cancer Staging Manual, 6th ed. New York: Springer, 2002, pp 227–228.

2.2.10 Penatalaksanaan

Terapi dapat bersifat kuratif atau paliatif. Terapi kuratif dianjurkan untuk stadium I, II, dan III. Pasien dengan tumor lokal lanjut (T3,T4) dan bahkan inflammatory carcinoma mungkin dapat disembuhkan dengan terapi multimodalitas, tetapi kebanyakan hanya bersifat paliatif. Terapi paliatif diberikan pada pasien dengan stadium IV dan untuk pasien dengan metastasis jauh atau untuk karsinoma lokal yang tidak dapat direseksi.

A. Terapi secara pembedahan

1. Mastektomi partial (breast conservation)

Tindakan konservatif terhadap jaringan payudara terdiri dari reseksi tumor primer hingga batas jaringan payudara normal, radioterapi dan pemeriksaan status KGB (kelenjar getah bening) aksilla. Reseksi tumor payudara primer disebut juga sebagai reseksi segmental, lumpectomy, mastektomi partial dan tylectomy. Tindakan konservatif, saat ini merupakan terapi standar untuk wanita dengan karsinoma mammae invasif stadium I atau II. Wanita dengan DCIS hanya memerlukan reseksi tumor primer dan radioterapi adjuvan. Ketika lumpectomy dilakukan, insisi dengan garis lengkung konsentrik pada nipple-areola complex dibuat pada kulit diatas karsinoma mammae. Jaringan karsinoma diangkat dengan diliputi oleh jaringan mammae normal yang adekuat sejauh 2 mm dari tepi yang bebas dari jaringan tumor. Dilakukan juga permintaan atas status reseptor hormonal dan ekspresi HER-2/neu kepada patologis.

Setelah penutupan luka payudara, dilakukan diseksi KGB aksilla ipsilateral untuk penentuan stadium dan mengetahui penyebaran regional. Saat ini, sentinel node biopsy merupakan prosedur staging yang dipilih pada aksilla yang tidak

ditemukan adanya pembesaran KGB. Ketika sentinel node biopsy menunjukkan hasil negatif, diseksi KGB aksilla tidak dilakukan.

2. Modified Radical Mastectomy

Modified radical mastectomy mempertahankan baik M. pectoralis mayor and M. pectoralis minor, dengan pengangkatan KGB aksilla level I dan II tetapi tidak level III. Modifikasi Patey mengangkat M. pectoralis minor dan diseksi KGB aksilla level III. Batasan anatomis pada Modified radical mastectomy adalah batas anterior M. latissimus dorsi pada bagian lateral, garis tengah sternum pada bagian medial, bagian inferiornya 2-3 cm dari lipatan infra-mammae dan bagian superiornya m. subclavia.

Seroma dibawah kulit dan di aksilla merupakan komplikasi tersering dari mastektomi dan diseksi KGB aksilla, sekitar 30% dari semua kasus. Pemasangan closed-system suction drainage mengurangi insidensi dari komplikasi ini. Kateter dipertahankan hingga cairan drainage kurang dari 30 ml/hari. Infeksi luka jarang terjadi setelah mastektomi dan kebanyakan terjadi sekunder terhadap nekrosis skin-flap. Pendarahan sedang dan hebat jarang terjadi setelah mastektomi dan sebaiknya dilakukan eksplorasi dini luka untuk mengontrol pendarahan dan memasang ulang closed-system suction drainage. Insidensi lymphedema fungsional setelah modified radical mastectomy sekitar 10%. Diseksi KGB aksilla ekstensif, terapi radiasi, adanya KGB patologis dan obesitas merupakan faktor-faktor predisposisi.

B. Terapi secara medikalis (non-pembedahan)

1. Radioterapi

Terapi radiasi dapat digunakan untuk semua stadium karsinoma mammae.

Untuk wanita dengan DCIS, setelah dilakukan lumpectomy, radiasi adjuvan diberikan untuk mengurangi resiko rekurensi lokal, juga dilakukan untuk stadium I, IIa, atau IIb setelah lumpectomy. Radiasi juga diberikan pada kasus resiko/kecurigaan metastasis yang tinggi.

Pada karsinoma mammae lanjut (Stadium IIIa atau IIIb), dimana resiko rekurensi dan metastasis yang tinggi maka setelah tindakan pembedahan dilanjutkan dengan terapi radiasi adjuvan.

2. Kemoterapi

a. Kemoterapi adjuvan

Kemoterapi adjuvan memberikan hasil yang minimal pada karsinoma mammae tanpa pembesaran KGB dengan tumor berukuran kurang dari 0,5 cm dan tidak dianjurkan. Jika ukuran tumor 0,6 sampai 1 cm tanpa pembesaran KGB dan dengan resiko rekurensi tinggi maka kemoterapi dapat diberikan. Faktor prognostik yang tidak menguntungkan termasuk invasi pembuluh darah atau limfe, tingkat kelainan histologis yang tinggi, overekspresi HER-2/neu dan status reseptor hormonal yang negatif sehingga direkomendasikan untuk diberikan kemoterapi adjuvan. Contoh regimen kemoterapi yang digunakan antara lain; siklofosamid, doxorubicin, 5-fluorourasil dan methotrexate.

Untuk wanita dengan karsinoma mammae yang reseptor hormonalnya negatif dan lebih besar dari 1 cm, kemoterapi adjuvan cocok untuk diberikan.

Rekomendasi pengobatan saat ini, berdasarkan NSABP B-15, untuk stadium IIIa yang operabel adalah modified radical mastectomy diikuti kemoterapi adjuvan dengan doxorubisin diikuti terapi radiasi.

b. Neoadjuvant chemotherapy

Kemoterapi neoadjuvan merupakan kemoterapi inisial yang diberikan sebelum dilakukan tindakan pembedahan, dimana dilakukan apabila tumor terlalu besar untuk dilakukan lumpectomy.

Rekomendasi saat ini untuk karsinoma mammae stadium lanjut adalah kemoterapi neoadjuvan dengan regimen adriamycin diikuti mastektomi atau lumpectomy dengan diseksi KGB aksilla bila diperlukan, diikuti kemoterapi adjuvan, dilanjutkan dengan terapi radiasi. Untuk Stadium IIIa inoperabel dan IIIb, kemoterapi neoadjuvan digunakan untuk menurunkan beban atau ukuran tumor tersebut, sehingga memungkinkan untuk dilanjutkan modified radical mastectomy, diikuti dengan kemoterapi dan radioterapi.

3. Terapi anti-estrogen

Dalam sitosol sel-sel karsinoma mammae terdapat protein spesifik berupa reseptor hormonal yaitu reseptor estrogen dan progesteron. Reseptor hormon ini ditemukan pada lebih dari 90% karsinoma duktal dan lobular invasif yang masih berdiferensiasi baik.

Setelah berikatan dengan reseptor estrogen dalam sitosol, tamoxifen menghambat pengambilan estrogen pada jaringan payudara. Respon klinis terhadap anti-estrogen sekitar 60% pada wanita dengan karsinoma mammae dengan reseptor hormon yang positif, tetapi lebih rendah yaitu sekitar 10% pada

reseptor hormonal yang negatif. Kelebihan tamoxifen dari kemoterapi adalah tidak adanya toksisitas yang berat. Nyeri tulang, hot flushes, mual, muntah dan retensi cairan dapat terjadi pada penggunaan tamoxifen. Resiko jangka panjang penggunaan tamoxifen adalah karsinoma endometrium. Terapi dengan tamoxifen dihentikan setelah 5 tahun. Beberapa ahli onkologi merekomendasikan tamoxifen untuk ditambahkan pada terapi neoadjuvan pada karsinoma mammae stadium lanjut terutama pada reseptor hormonal yang positif. Untuk semua wanita dengan karsinoma mammae stadium IV, anti-estrogen (tamoxifen), dipilih sebagai terapi awal.

4. Terapi antibodi anti-HER2/neu

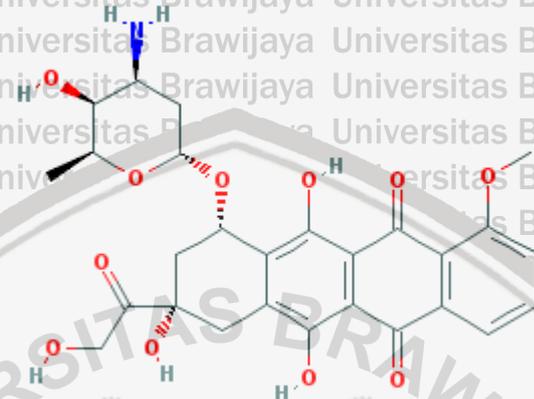
Penentuan ekspresi HER-2/neu pada semua karsinoma mammae yang baru didiagnosis, saat ini direkomendasi. Hal ini digunakan untuk tujuan prognostik pada pasien tanpa pembesaran KGB, untuk membantu pemilihan kemoterapi adjuvan karena dengan regimen adriamycin memberikan respon yang lebih baik pada karsinoma mammae dengan overekspresi HER-2/neu. Pasien dengan overekspresi Her-2/neu mungkin dapat diobati dengan trastuzumab yang ditambahkan pada kemoterapi adjuvan.

2.2.11 Prognosis

Survival rates untuk wanita yang didiagnosis karsinoma mammae antara tahun 1983-1987 telah dikalkulasi berdasarkan pengamatan, epidemiologi dan hasil akhir program data, didapatkan bahwa angka 5-year survival untuk stadium I adalah 94%, stadium IIa 85%, IIb 70%, dimana pada stadium IIIa sekitar 52%, IIIb 48% dan untuk stadium IV adalah 18%.

(American Cancer Society, 2017)

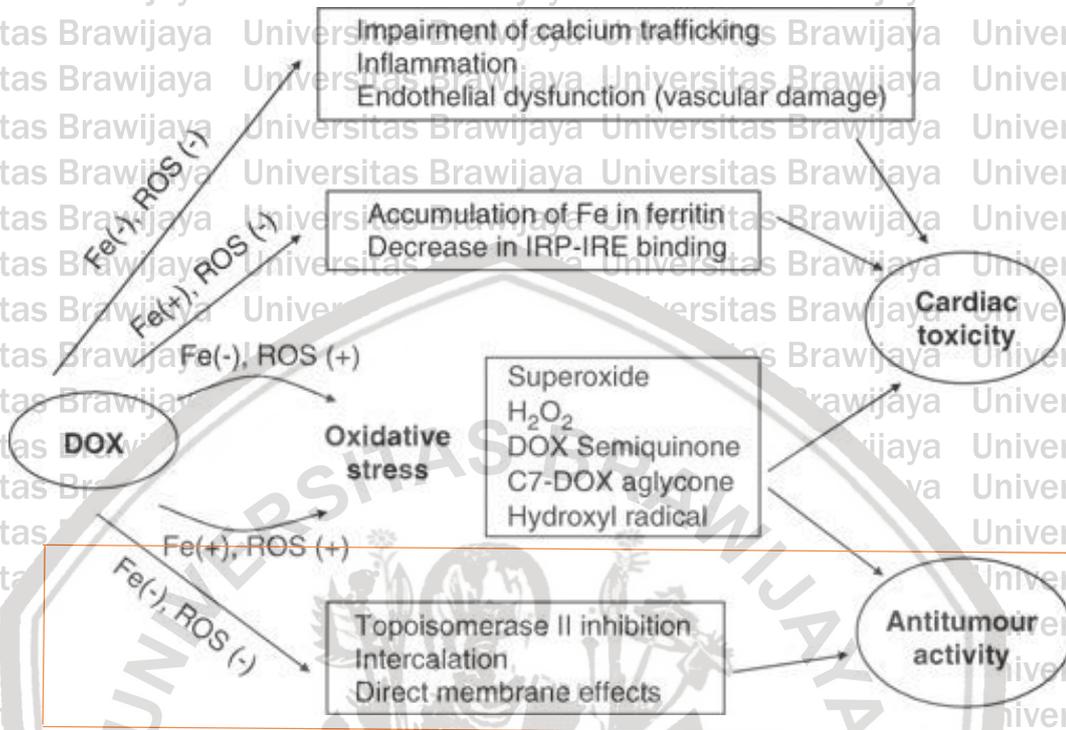
2.3 Doxorubicin



Gambar 2.3 Struktur Doxorubicin

Doxorubicin merupakan antibiotik golongan antrasiklin yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker seperti leukemia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium (Childs et al., 2002). Senyawa ini diisolasi dari *Streptomyces peucetius* var *caesius* pada tahun 1960-an dan digunakan secara luas (Minotti et al., 2004). Doxorubicin dapat menyebabkan kardiotoxicitas pada penggunaan jangka panjang, hal itu menyebabkan penggunaannya secara klinis menjadi terbatas. Efek samping pada pemakaian kronisnya bersifat ireversibel, termasuk terbentuknya cardiomyopathy dan congestive heart failure (Han et al., 2008). Umumnya doxorubicin digunakan dalam bentuk kombinasi dengan agen antikanker lainnya seperti siklofosamid, cisplatin dan 5-FU. Peningkatan respon klinis dan pengurangan efek samping cenderung lebih baik pada penggunaan kombinasi dengan agen lain dibandingkan penggunaan doxorubicin tunggal (Bruton et al., 2005).

2.3.1 Mekanisme Kerja Doxorubicin



Gambar 2.4 Mekanisme Doxorubicin

Berbagai penelitian mengenai mekanisme kerja doxorubicin telah dilakukan. Antibiotik antrasiklin seperti doxorubicin memiliki mekanisme aksi sitotoksik melalui empat mekanisme yaitu:

- (1) penghambatan topoisomerase II
- (2) interkalasi DNA sehingga mengakibatkan penghambatan sintesis DNA dan RNA
- (3) pengikatan membran sel yang menyebabkan aliran dan transport ion
- (4) pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen melalui proses yang tergantung besi dan proses reduktif yang diperantarai enzim.

Mekanisme radikal bebas ini telah diketahui bertanggungjawab pada kardiotoxikitas akibat antibiotik antrasiklin (Bruton et al, 2005).

Doxorubicin dapat berinterkalasi dengan DNA, secara langsung akan mempengaruhi transkripsi dan replikasi. Doxorubicin mampu membentuk kompleks tripartit dengan topoisomerase II dan DNA. Topoisomerase II adalah suatu enzim tergantung ATP yang bekerja mengikat DNA dan menyebabkan double-strand break pada ujung 3'fosfat sehingga memungkinkan penukaran strand dan pelurusan DNA superkoil. Pelurusan strand ini diikuti dengan penyambungan strand DNA oleh topoisomerase II. Topoisomerase ini sangat penting fungsinya dalam replikasi dan perbaikan DNA. Pembentukan kompleks tripartit tersebut akan menghambat penyambungan kembali strand DNA, menyebabkan penghambatan daur sel terhenti di fase G1 dan G2 serta memacu terjadinya apoptosis (Gewirtz, 1999; Minotti et al., 2004). Adanya gangguan pada sistem perbaikan DNA double strand akan memicu kerusakan sel, sedangkan overekspresi transkripsi untuk perbaikan DNA mungkin terlibat dalam fenomena resistensi obat. Doxorubicin dengan adanya gugus quinon yang dimilikinya juga mampu menghasilkan radikal bebas baik pada sel normal maupun sel kanker (Gewirtz, 1999). Doxorubicin dapat membentuk intermediate radikal semiquinon, yang dapat bereaksi dengan oksigen menghasilkan radikal anion superoksida, yang selanjutnya akan akan menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang menyerang DNA (Serrano et al., 1999) dan mengoksidasi basa pada DNA. Pembentukan radikal bebas ini secara signifikan distimulasi oleh interaksi antara doxorubicin dengan besi. Pertahanan enzimatik dalam sel seperti superoksida dismutase dan katalase merupakan hal penting untuk menjaga sel dari toksisitas doxorubicin (Bruton et al., 2005).

2.4 Benalu Mangga

Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra* L. Miq.) merupakan salah satu benalu yang mudah didapat di Indonesia karena wilayah Indonesia sebagian besar adalah dataran rendah dimana pohon mangga sangat cocok hidup di dataran rendah. (Diantika L., et al. 2016). Benalu mangga sebelumnya sudah digunakan sebagai obat tradisional dan diketahui bahwa benalu mangga dapat berperan sebagai anti-inflamasi dan anti-kanker. (Endharti, et al. 2016)

2.4.1 Klasifikasi

Adapun klasifikasi ilmiah benalu mangga adalah sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
 Divisio : Mognoliophyta
 Classis : Mognoliopsida
 Sub Classis : Rosidae
 Ordo : Santalales
 Familia : Loranthaceae
 Genus : *Dendrophthoe*
 Species : *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.

(Backer and Van Den Brink, 1965)

2.4.2 Kandungan Kimia Benalu Mangga

Kandungan kimia Benalu mangga secara umum mengandung flavonoid, kuersetin, mesoinositol, rutin, tanin (Ikawati dkk., 2008), kuinon, steroid dan triterpenoid (Fajriah dkk., 2007).

2.5 Tanin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. Terdapat dua jenis utama tanin yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis terbagi menjadi dua yakni galotanin dan elagitanin. Tanin terkondensasi memiliki berat molekul 1000 – 3000, sedangkan tanin terhidrolisis memiliki berat molekul 1000 – 1500 pada galotanin dan 1000 – 3000 pada elagitanin (Harbone, 1996). Tanin terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit (Robinson, 1995). Senyawa tanin merupakan senyawa yang termasuk golongan senyawa flavonoid, karena dilihat dari strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon. Kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi geser ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi (Hayati, dkk., 2010).

2.5.1 Sifat-Sifat Tanin

Sifat utama tanin tumbuh-tumbuhan tergantung pada gugusan fenolik-OH yang terkandung dalam tanin, dan sifat tersebut secara garis besar dapat diuraikan sebagai berikut (Browning, 1966):

a. Sifat kimia tanin

1. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid, karena itu di dalam air bersifat koloid dan asam lemah.

2. Semua jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar, akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas, begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya.

3. Tanin dengan garam besi memberikan reaksi warna hijau dan biru kehitaman yang digunakan untuk menguji klasifikasi tanin. Uji ini kurang baik, karena selain tanin yang dapat memberikan reaksi warna, zat-zat lain juga dapat memberikan warna yang sama.

4. Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu $210\text{ }^{\circ}\text{F}$ – $215\text{ }^{\circ}\text{F}$ ($98,89\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $101,67\text{ }^{\circ}\text{C}$).

5. Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa dan enzim.

6. Ikatan kimia yang terjadi antara tanin-protein atau polimer-polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik dan ikatan kovalen.

b. Sifat fisik tanin

1. Umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh.

2. Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut.

3. Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astrigent).

4. Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka.

5. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik, fungistatik dan merupakan racun.

2.5.2 Penggolongan Tanin

a. Tanin Terkondensasi

Tanin terkondensasi atau proantosianidin tersebar luas pada paku-pakuan, gimnospermae, angiospermae terutama dalam tumbuhan berkayu, sebagai penolak binatang menyusu dan serangga pemakan tumbuhan karena kesecepatannya dan daya samaknya. Bukti menunjukkan bahwa jika kadar tanin dalam daun lebih dari 2 % bobot kering, barulah tanin tersebut merupakan penolak makanan (Harbone, 1996).

Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal atau galokatekin yang

membentuk senyawa dimer, dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Ikatan-ikatan karbon menghubungkan satu satuan flavolan dengan satuan berikutnya melalui ikatan 4 – 8 atau 6 – 8. Kebanyakan flavolan mempunyai 2 sampai 20 satuan flavon (Harbone, 1996). Tanin terkondensasi atau proantosianidin merupakan polimer flavonoid. Proantosianidin didasarkan pada sistem cincin heterosiklik yang diperoleh dari fenilalanin (B) dan biosintesis poliketida (A).

Proantosianidin adalah senyawa yang menghasilkan pigmen antosianidin melalui pemecahan secara oksidatif dalam alkohol panas. Kebanyakan proantosianidin adalah prosianidin, jika direaksikan dengan asam akan menghasilkan sianidin (Hagerman, et al., 1992). Proantosianidin didefinisikan sebagai oligo atau polimer flavonoid (flavan-3-ol atau flavan-3-4-diol) dimana ikatan C-C tidak mudah untuk dihidrolisi.

Tanin dapat dideteksi dengan sinar UV pendek berupa bercak lembayung yang bereaksi positif dengan setiap pereaksi fenol baku. Proantosianidin dapat dideteksi langsung dalam jaringan tumbuhan hijau dengan mencelupkan ke dalam 2 M HCl mendidih selama setengah jam, bila terbentuk warna merah yang dapat diekstraksi dengan amil atau butil alkohol, maka ini suatu bukti positif adanya senyawa tersebut (Harborne, 1996). Terbentuknya warna coklat kuning setelah penambahan HCl 2M menunjukkan adanya katekin (Robinson, 1995).

b. Tanin Terhidrolisis

Tanin terhidrolisis merupakan turunan dari asam galat (asam 3,4,5-trihidroksil benzoat). Senyawa ini mengandung ikatan ester antara suatu

monosakarida terutama gugus hidroksilnya. Tanin terhidrolisis dapat dibagi dalam dua kelas besar yaitu gallotanin dan ellagitannin. (Hagerman, et al., 1992). Terdapat gugus karbohidrat (biasanya D-glukosa) pada tanin terhidrolisis, merupakan hidroksil dari karbohidrat atau phenolic esterified seperti asam galat pada gallotannin atau asam elagat pada ellagitannin (Ismarani, 2012). Tanin terhidrolisis mudah terhidrolisis dengan penambahan asam lemah atau dengan basa lemah, dan membentuk karbohidrat serta asam fenolik (Manitto, 1981).

Tanin terhidrolisis biasanya berupa senyawa amorf, higroskopis, berwarna coklat kuning yang larut dalam air terutama air panas membentuk larutan koloid bukan larutan sebenarnya. Semakin murni tanin maka semakin kurang kelarutannya dalam air dan semakin mudah diperoleh dalam bentuk kristal. Tanin terhidrolisis larut pula dalam pelarut organik polar tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzena dan kloroform (Robinson, 1995).

1. Gallotanin

Gallotanin merupakan jenis tanin terhidrolisis yang paling sederhana dari suatu ester pentagaloil glukosa (β -1,2,3,4,6-Pentagaloil-O-D-Glukosa). Pentagaloil glukosa atau PGG memiliki lima ikatan ester yang mengandung gugus alifatik hidroksil dengan glukosa sebagai inti (Hagerman, 2002). Gallotanin bila dihidrolisis akan menghasilkan asam gallat (Manitto, 1981).

Sifat fisik gallotanin ialah polimer amorf, berwarna putih kekuningan, bau spesifik, dapat larut dalam air dan gliserol, sangat larut dalam alkohol dan aseton, tidak larut dalam benzen, kloroform, eter, petroleum eter, karbon

disulfida dan karbon tetraklorida (Gohen, 1976). Sifat kimia gallotanin berwarna coklat jika terkena cahaya dengan albumin, tepung, gelatin, alkaloid, dan garam metalik memberikan endapan yang tidak larut, sedangkan dengan FeCl_3 memberikan warna biru kehitaman, pada suhu 215°C akan terdekomposisi menjadi pirogalol. Gallotanin bila dihidrolisis menghasilkan asam galat (Manitto, 1981).

2. Ellagitanin

Ellagitanin merupakan ester dari asam heksahidroksidifenil (HDDP). HDDP secara spontan terdehidrasi membentuk lakton menjadi asam elagat (Hagerman, et al., 1992). Perbedaan struktur gallotanin dan ellagitanin adalah adanya ester asam galat pada gallotanin dan ester asam heksahidroksidifenat (HHDP) (1) pada ellagitanin. Kedua ester asam tersebut berikatan dengan glukosa. Ellagitanin yang dihidrolisis akan menghasilkan asam elagat (2). Asam elagat merupakan hasil sekunder yang terbentuk pada hidrolisis beberapa tanin yakni ester asam heksaoksidifenat. Aktivitas biologi ellagitanin merupakan implikasi dari ikatan antara ellagitanin dengan protein, senyawa dengan berat molekul tinggi, senyawa sederhana, dan ion logam berat. Ikatan tersebut membentuk kompleks senyawa yang dapat menyebabkan perubahan fisiologis dalam sel atau jaringan makhluk hidup. Berbagai penelitian telah dikembangkan untuk mengeksplorasi ellagitanin dan aktivitas biologinya. Tahun 1992 baru sekitar 90 senyawa ellagitanin yang diketahui memiliki aktivitas biologi. Aktivitas biologi ellagitanin yang telah diketahui antara lain sebagai antidiabetes, antimikrobia, antivirus, antihipertensi, antioksidan, dan antikanker atau antitumor. Hasil dari sekian

banyak penelitian yang telah dilakukan, belum ada yang menunjukkan efek toksik ellagitanin.

Aktivitas antioksidatif tanin, termasuk ellagitanin, antara lain penghambatan autooksidasi asam askorbat yang dikatalisis oleh ion Cu^{2+} (Hernawan dan Setyawan, 2003).

Prosedur ekstraksi biasa tidak cukup untuk mengisolasi ellagitanin.

Proses ekstraksi umumnya dilakukan secara berulang dan bertahap. Sering kali, ekstraksi dengan aseton 70% dilakukan berulang sampai tiga kali dan dilanjutkan ke tahapan isolasi (Hernawan dan Setyawan, 2003).

2.5.3 Manfaat Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. (Malanggia, 2012). Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti "reverse" transkriptase dan DNA topoisomerase. (Mabrurroh, 2015)

2.6 Protein Kinase A

Protein kinase A (PKA) adalah protein yang merupakan efektor dari cAMP. cAMP merupakan kependekan dari Cyclic adenosine monophosphate, yang memiliki peran dalam siklus sel. cAMP mengaktifasi protein kinase A agar siklus sel dapat terjadi, termasuk pada siklus sel kanker. Protein kinase A memiliki peranan dalam regulasi berbagai siklus sel. (Caretta, Antonio, et al. 2011) Protein ini dapat ditemukan di sel mamalia. Protein kinase A

diketahui mengalami overekspresi pada sel kanker manusia, termasuk sel kanker payudara dan diinduksi oleh growth factor, antara lain TGF- α atau onkogen, seperti ras dan erbB-2. Overekspresi pada PKA ini menimbulkan prognosis yang buruk pada pasien yang mengidap berbagai macam kanker.

(G Tortora, 2002).

2.6.1 Efek Overekspresi Protein Kinase A terhadap Doxorubicin

PKA dapat memberi efek sensitivitas pada obat sitotoksik. Overekspresi pada PKA menaikkan sensitivitas pada obat yang memiliki target pada DNA topoisomerase II, seperti doxorubicin dan etoposide, dan bertanggungjawab pada hipersensitivitas pada obat tersebut yang dilihat pada sel kanker manusia yang overekspresi faktor ras. Namun, PKA tidak memberi efek pada ekspresi dan aktivitas katalis enzim DNA topoisomerase II. (G Tortora, 2002).

2.6.2 Mekanisme Protein Kinase A pada Sel Kanker Payudara

PKA berada pada membran sel. Ekspresi PKA saling berhubungan dengan cAMP. cAMP yang aktif akan mengaktivasi PKA sehingga PKA menjadi aktif dan adanya ketidakstabilan regulasi dalam sel sehingga PKA overekspresi. PKA terdapat pada membran sel kanker payudara. PKA tersebut mempengaruhi RhoGF yang mengaktivasi RhoA, Rac, RhoC sehingga kelompok Rho meregulasi aktin untuk mereorganisasi melalui berbagai efektor dalam kanker payudara, sehingga menimbulkan semakin aktifnya motilitas serta metastase sel kanker. (G. Jiang, 2009)

2.7 Metode Insilico

2.7.1 Metode Docking

Molecular docking adalah suatu teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. *Molecular docking* dapat memprediksi orientasi dari suatu molekul ke molekul yang lain ketika berikatan membentuk kompleks yang stabil. Terdapat dua aspek penting dalam *molecular docking*, yaitu fungsi scoring dan penggunaan algoritma (Funkhouser, 2007).

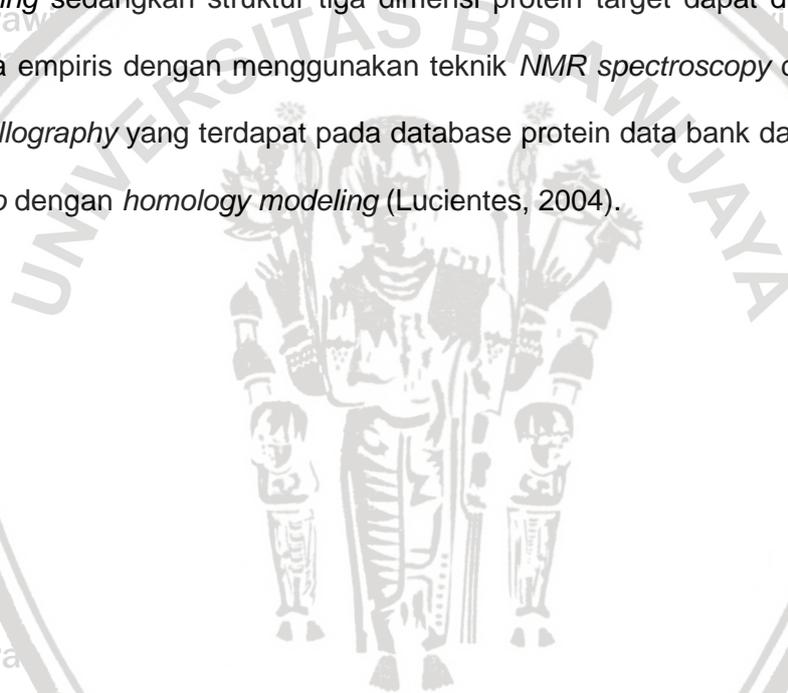
Metode untuk mencari posisi optimal ligan terhadap sisi aktif pengikatan dari struktur target (reseptor). *Molecular docking* dapat memprediksi afinitas pengikatan kompleks yang terbentuk antara reseptor dengan ligan menggunakan berbagai parameter seperti argo binding, konstanta inhibitor, ikatan hydrogen dan kontak hidrofobik. *Molecular docking* sangat berguna dalam proses perancangan obat, seperti untuk memprediksi afinitas pengikatan dari inhibitor yang didesain terhadap enzim tertentu yang ingin dihambat aktivitasnya (Yeteru dan Nagasuma, 2008).

Fungsi scoring dapat memperkirakan afinitas ikatan antara makromolekul dengan ligan (molekul kecil yang memiliki afinitas terhadap makromolekul). Identifikasi ini didasarkan pada beberapa teori seperti teori energi bebas Gibbs. Nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk kurang atau tidak stabil. Sedangkan penggunaan algoritma berperan dalam penentuan konformasi (*docking pose*) yang stabil

(*favourable*) dari pembentukan kompleks (Funkhouser, 2007). Berdasarkan pada interaksi yang terjadi, terdapat beberapa jenis *molecular docking*, yaitu

(1) Docking protein-protein, (2) Docking ligan-protein, dan (3) Docking ligan-DNA.

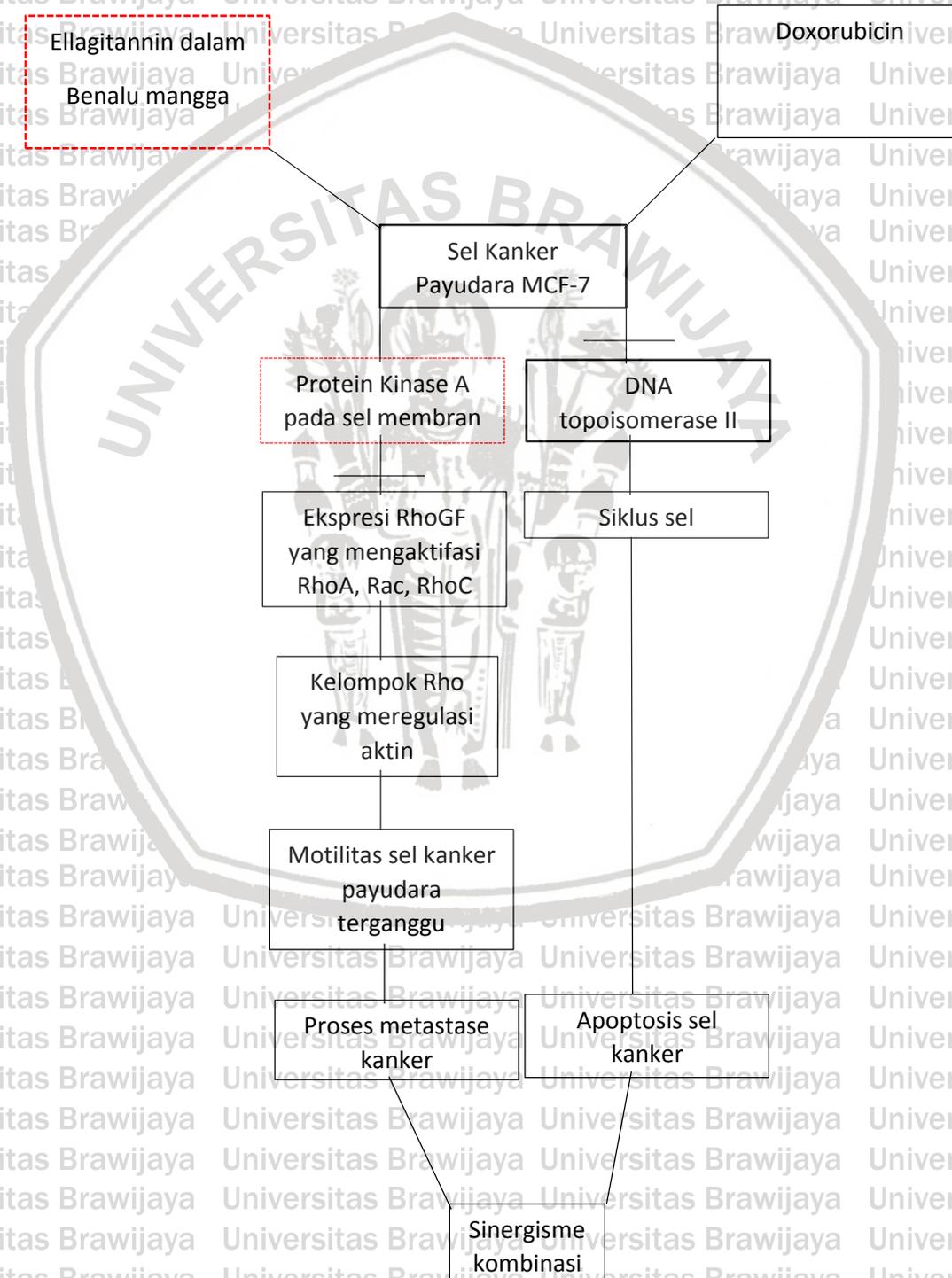
Untuk melakukan *molecular docking*, hal pertama yang dibutuhkan adalah struktur tiga dimensi dari ligan (drug) dan protein target. Struktur tiga dimensi ligan dapat dimodelkan dengan menggunakan teknik *molecular modeling* sedangkan struktur tiga dimensi protein target dapat ditentukan secara empiris dengan menggunakan teknik *NMR spectroscopy* dan *x-ray crystallography* yang terdapat pada database protein data bank dan secara *insilico* dengan *homology modeling* (Lucientes, 2004).



BAB 3

KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Universitas Brawijaya

: diteliti

Universitas Brawijaya

: tidak diteliti

: menghambat

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Tanin dalam benalu mangga, yaitu ellagitannin menghambat protein kinase A dalam siklus sel kanker sehingga berefek pada ekspresi faktor RhoGTP yang mengaktifasi RhoA, Rac, RhoC, setelah itu kelompok Rho tersebut yang biasanya meregulasi aktin untuk mereorganisasi melalui berbagai efektor dalam kanker payudara menjadi terhambat, dan menimbulkan motilitas sel kanker payudara menurun sehingga akhirnya proses metastase kanker terhambat.

Sedangkan kerja doxorubicin dengan menghambat DNA topoisomerase II sehingga menimbulkan penghambatan siklus sel yang pada akhirnya terjadi apoptosis sel kanker.

Dengan adanya dua cara kerja tersebut dapat menimbulkan sinergisme kombinasi terapi bagi sel kanker payudara.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ellagitannin dengan protein kinase A dapat berikatan dan memiliki ikatan kuat dengan afinitas ikatan lebih dari batas minimal (-7,3 kcal/mol)

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sekunder yang mengambil sample dari database pubchem, yang bertujuan untuk mengetahui daya ikatan tanin dalam benalu mangga dengan protein kinase A pada permukaan membrane yang nantinya diharapkan dapat berfungsi sebagai terapi kombinasi untuk kanker payudara.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah daun benalu mangga (*Dendroptoe pertandra*) yang diambil dari Probolinggo, Jawa Timur, Indonesia.

4.2.2 Sampel

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah ellagitannin yang terdapat pada daun benalu mangga (*Dendroptoe pertandra* (L.)) yang datanya didapatkan dari database *PubChem*.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Ruang Ketahanan Jurnal Universitas Brawijaya pada bulan Oktober 2017-Januari 2018.

4.4 Identifikasi Variabel

4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah ikatan ellagitannin terhadap protein kinase A pada kanker payudara.

4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ada atau tidaknya ikatan ellagitannin terhadap protein kinase A dan seberapa kuat afinitas ikatan ellagitannin dalam benalu mangga terhadap protein kinase A yang digunakan sebagai antikanker payudara.

4.5 Definisi operasional

- Ellagitannin adalah termasuk dalam kelas tanin yang terhidrolisis, yang terdiri atas ester asam heksahidroksidiphenolat dan monosakarida (paling sering glukosa). (Lipinska, 2014)
- Protein kinase A adalah tetramer inaktif yang terdiri atas dua regulatory dan dua katalitik subunit. (Antonio, et al. 2011)
- Molecular docking adalah studi yang mempelajari bagaimana dua atau lebih struktur molekul dapat berikatan satu sama lain yang diukur dengan afinitas ikatan yang memiliki satuan kcal/mol menggunakan software PyRX v.0.8.
- Afinitas ikatan adalah energi yang dibutuhkan suatu ligand agar dapat berikatan dengan makromolekul atau ligand lainnya yang memiliki satuan kcal/mol dengan besarnya yaitu secara negatif.

- Obat kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikatan 2-aminoacrylic acid (2aa) yaitu salah satu bagian dari 2-Pyrimidyl-5-Amidothiophenes, yang berperan dalam menghambat protein kinase A dalam sel kanker payudara.

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat untuk Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu set laptop dengan spesifikasi: Processor tipe Intel® inside™ CORE i3, RAM 2GB, dan harddisk 500 GB.

4.6.2 Bahan untuk Penelitian

a. Struktur tiga dimensi Tanin

(didapat dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>).

b. Struktur tiga dimensi protein kinase A (didapat dari <http://www.uniprot.org/uniprot/P17612>)

c. Perangkat lunak Discovery Studio untuk mengkonversi canonical smiles ellagitannin menjadi struktur tiga dimensi, PyMOL 2.0.6 untuk menghasilkan gambar molekuler, PyRX 0.8 untuk melakukan simulasi penambatan molekuler sehingga didapat skor binding affinity.

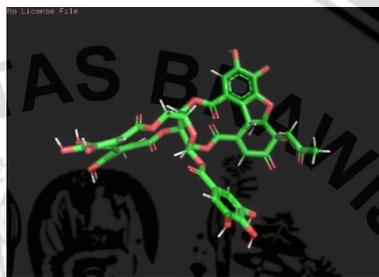
4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Prosedur Penelitian

1. Preparasi Tanin

Struktur Tanin dalam format canonical SMILES disalin dari

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>. Setelah itu dikonversikan menjadi struktur tiga dimensi .pdb dengan aplikasi Discovery Studio.



Gambar 4.1 Ellagitanin sebelum di-docking

2. Preparasi protein kinase A

Struktur tiga dimensi protein kinase A yang masih berikatan dengan obat dalam format .pdb diunduh dari <http://www.uniprot.org/uniprot/P17612>. Setelah itu struktur dipisah dengan struktur tiga dimensi obat menggunakan aplikasi PyMOL 2.0.6 dalam format .pdb



Gambar 4.2 PKA sebelum di-docking

3. Proses Docking

Proses docking menggunakan aplikasi PyRX 0.8. Langkah-langkah yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

- 1) Diklik add macromolecules pada bagian vina wizard untuk memasukkan struktur tiga dimensi protein kinase A
- 2) Setelah itu diklik add ligand untuk memasukkan struktur tiga dimensi Tanin dan obat yang sebelumnya terikat dengan protein kinase A.
- 3) Pada bagian autodock, klik kanan pada setiap struktur, setelah itu klik display sehingga semua struktur terlihat pada ruang 3D scene.
- 4) Pada bagian molecules, diklik kanan kedua ligand (Tanin dan obat), setelah itu klik display, dan pilih ball and sticks dan molecular surface untuk melihat letak kedua ligand tersebut pada 3D scene.
- 5) Klik forward pada bagian kanan bawah Vina wizard, setelah itu atur ruang reaksi dalam fitur Run AutoGrid pada 3D scene sehingga semua ligand terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus.
- 6) Setelah semua letak ligand sesuai, klik forward untuk proses docking.

4.8 Analisis Data

Hasil akhir yang didapat dari docking menggunakan PyRX 0.8 adalah afinitas ikatan (binding affinity) ligan-makromolekul. Nilai negatif pada binding affinity menunjukkan ikatan antara ligan dan makromolekul. Semakin negatif nilai binding affinity, semakin baik prediksi ikatan antara ligan dan makromolekul. Nilai normal binding affinity adalah $-7,3$ kcal/mol. Suatu binding affinity dikatakan kuat ikatannya apabila score binding affinity $\leq -7,3$ kcal/mol. (Dallakyan dan Olson, 2015)

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

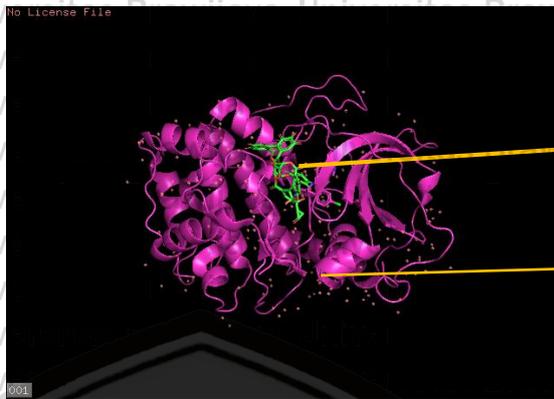
5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Docking Ellagitannin terhadap Protein Kinase A

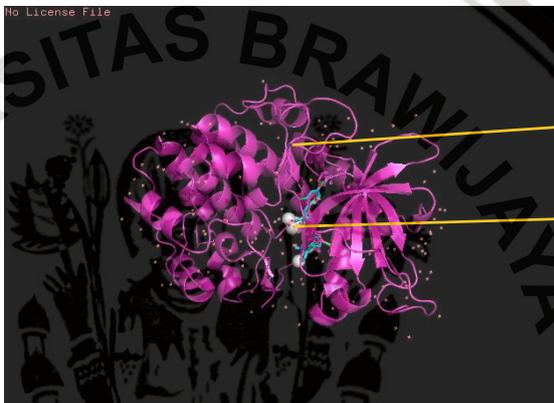
Protein kinase A dijadikan sebagai target karena protein ini merupakan salah satu protein yang memiliki peranan penting dalam kerja siklus sel termasuk siklus sel kanker. Penentuan target ini dilakukan berdasarkan dengan melihat potensi pada web PASS online, yaitu web yang digunakan sebagai alat untuk mengevaluasi potensi biologis suatu senyawa. Berdasarkan PASS online, diketahui Pa (probabilty "to be active": perkiraan senyawa tersebut bekerja pada target) senyawa ellagitannin sebagai protein kinase A *inhibitor* paling tinggi, yaitu sebesar 0,9 dengan batas minimal suatu senyawa jika memiliki potensi yaitu sebesar 0,7.

Protein kinase A adalah tetramer inaktif yang terdiri atas dua regulatory dan dua katalitik subunit. Ketika setiap subunit berikatan dengan dua molekul dari cAMP, terjadi rilisnya subunit katalitik dan menjadi phosphorylate, yang memiliki banyak macam target protein, dan pada akhirnya dapat memodifikasi aktivitas biologi, terutama aktivitas sel kanker. (Antonio, et al. 2011)

Protein kinase A bisa dijadikan salah satu target terapi kanker karena PKA sebagai agen pertama yang membuat protein kanker lainnya aktif. Dalam kanker payudara, beberapa protein yang bereksresi dan menimbulkan metastase maupun motilitas pada sel kanker payudara antara lain Rac, RhoA, dan P38 MAPK. (Jiang, et al. 2009)



Gambar 5.1 Hasil docking ikatan Ellagitannin terhadap Protein Kinase A



Gambar 5.2 Hasil docking ikatan Obat Kontrol terhadap Protein Kinase A

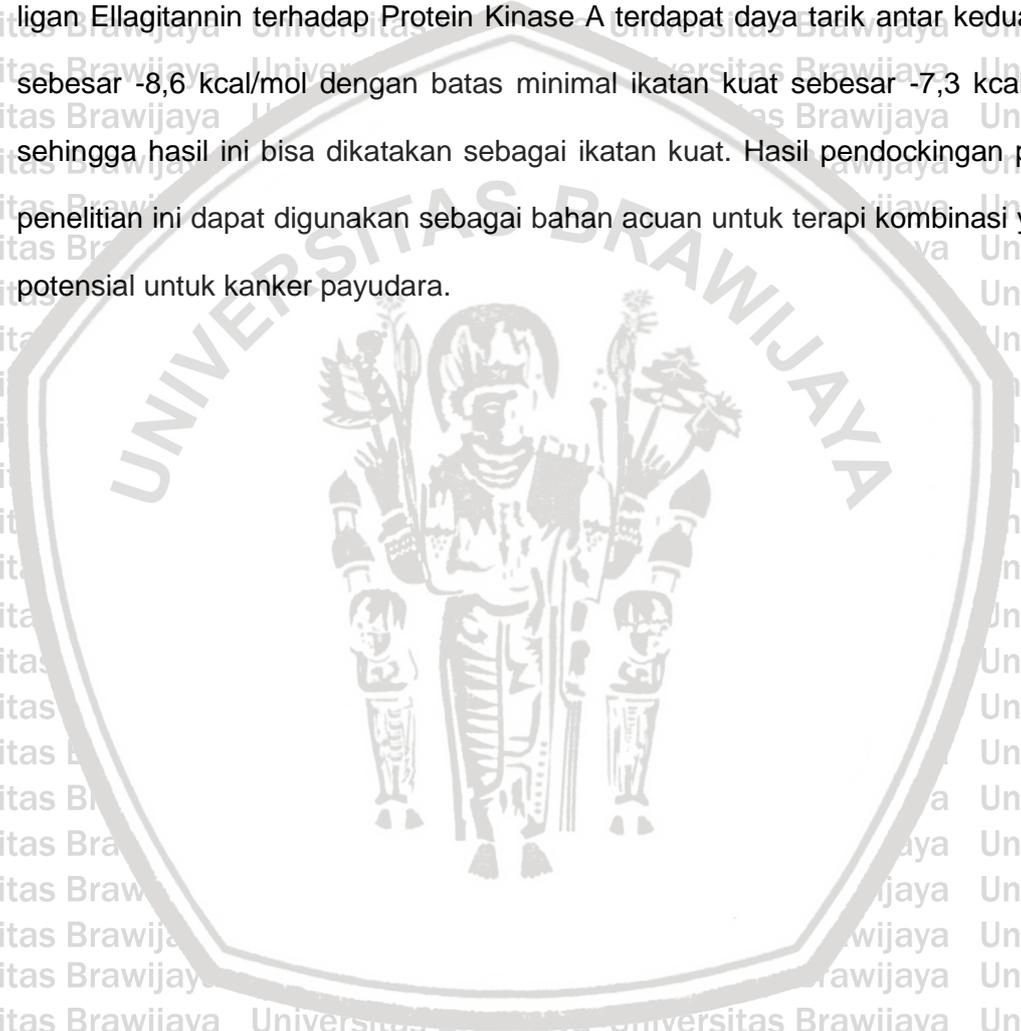
Berdasarkan hasil identifikasi asam amino dan ikatan dengan aplikasi LigPlot v. 1.4.5 diketahui ikatan hidrogen PKA dengan kontrol sebanyak lima ikatan, sedangkan ikatan hidrogen ellagitannin dengan PKA diketahui memiliki empat ikatan.

Asam amino yang ada pada ikatan ellagitannin dengan PKA antara lain:

Tyr 122, Ala 70, Val 104, Met 120, Ser 53, Asp 166, Gly 186, Phe 187, Lys 72, Phe 54, Leu 173, Leu 74, Gly 50, Glu 127, Phe 327, Gly 52, Arg 56, Val 57, Thr 183, Leu 49, dan Gly 55. Maupun asam amino yang ada pada ikatan PKA dengan kontrol adalah Gly 55, Thr 51, Gly 52, Arg 56, Lys 72, Phe 37, Leu 49, Met 120, Leu 173, Ala 70, Val 104, Tyr 122, Thr 183.

5.2 Analisis Data

Berdasarkan hasil docking, binding affinity ikatan ellagitannin terhadap protein kinase A lebih rendah daripada ikatan ellagitannin terhadap obat kontrol. Makna dari kekuatan ikat (binding affinity) -8.6 kcal/mol menyatakan bahwa antara ligan Ellagitannin terhadap Protein Kinase A terdapat daya tarik antar keduanya sebesar $-8,6$ kcal/mol dengan batas minimal ikatan kuat sebesar $-7,3$ kcal/mol sehingga hasil ini bisa dikatakan sebagai ikatan kuat. Hasil pendocking pada penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan acuan untuk terapi kombinasi yang potensial untuk kanker payudara.



BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Hasil Docking Ellagitanin Dengan Protein Kinase A

Penelitian ini menggunakan protein ellagitanin yang diprediksi memiliki fungsi sebagai inhibitor pada protein kinase A untuk menghambat motilitas sel kanker payudara. Teknik yang digunakan untuk mendapatkan hasil maksimal dari penelitian ini adalah teknik *docking* yang menggunakan visualisasi komputer dari ikatan protein tersebut.

Ellagitanin yang digunakan pada penelitian berasal dari jenis tanin yang ada pada benalu mangga (*Dendroptoe pertandra* (L.)). Ellagitanin merupakan tanin jenis terhidrolisis yang memiliki berat molekul sebesar 1000-3000. Efek antiproliferatif ellagitanin telah dikaitkan ke banyak mekanisme termasuk kapasitas dalam menghentikan siklus sel dan sifatnya yang memungkinkan sel kanker menjadi apoptosis lewat jalur mitokondria dan penghancuran diri setelah replikasi. (Chen, et al. 2015) Pada kanker payudara, ekspresi peptide growth factor yang diinduksi estrogen memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan kanker payudara. Penghambatan kanker ini dibutuhkan penggunaan antiestrogen dan aromatase inhibitor untuk mengobati kanker payudara. Senyawa ellagitanin yang ada pada buah delima menunjukkan potensi dalam memblokir sintesis estrogen endogenous dengan menghambat aktivitas aromatase. (Brodie., et al. 2006). Aktivitas biologi ellagitanin merupakan implikasi dari ikatan antara ellagitanin dengan protein, senyawa dengan berat molekul tinggi, senyawa sederhana, dan ion logam berat. Ikatan tersebut membentuk kompleks

senyawa yang dapat menyebabkan perubahan fisiologis dalam sel atau jaringan makhluk hidup.

Obat kontrol yang digunakan adalah ikatan 2-aminoacrylic acid (2aa) yaitu salah satu bagian dari 2-Pyrimidyl-5-Amidothiophenes, yang berperan dalam menghambat protein kinase A dalam sel kanker payudara. Obat kontrol ini digunakan sebagai pembanding karena ikatannya dengan PKA menunjukkan selektivitas sedang hingga sangat baik.

Hasil docking ikatan senyawa ellagitannin terhadap PKA diketahui afinitas ikatannya sebesar -8,6 kcal/mol dengan batas minimal afinitas ikatan kuat sebesar -7,3 kcal/mol. Meskipun jika dibandingkan dengan hasil docking ikatan ellagitannin dengan kontrol yang sebesar -9,8 kcal/mol, namun dengan hasil sebesar -8,6 kcal/mol bisa dikatakan bahwa ellagitannin memiliki ikatan yang kuat dengan PKA karena hasilnya lebih dari batas minimal yaitu -7,3 kcal/mol sehingga bisa dikatakan ellagitanin memiliki potensi sebagai protein kinase A inhibitor.

6.2 Hasil Identifikasi Asam Amino dan Ikatan pada Ellagitanin dengan

Protein Kinase A

Berdasarkan hasil identifikasi asam amino dan ikatan sebelumnya, diketahui terdapat sepuluh asam amino yang sama pada dua ikatan, yaitu Tyr 122, Ala 70, Val 104, Met 120, Lys 72, Leu 173, Gly 52, Arg 56, Thr 183, dan Gly 55. Serta jumlah ikatan hidrogen pada kedua ikatan tidak jauh berbeda, yaitu sebanyak empat ikatan pada ikatan kontrol dengan PKA dan lima ikatan pada ikatan ellagitannin dengan PKA. Hal ini membuktikan bahwa meskipun afinitas ikatan ellagitannin dengan PKA lebih rendah namun ikatan hidrogennya lebih banyak daripada ikatan kontrol dengan PKA. Hal ini dikarenakan atom hidrogen tidak

memiliki elektron inti yang dapat melindungi (shielding) [inti atom](#) dan ukurannya cukup kecil sehingga dapat lebih didekati oleh molekul-molekul lain dan jarak antara hidrogen dan muatan parsial negatif pasangan [elektron](#) bebas menjadi sangat dekat. Akibatnya, energi interaksi kutub-kutub antara hidrogen dan pasangan elektron bebas pada atom elektronegatif menjadi lebih besar daripada energi interaksi kutub-kutub lainnya.

6.3 Mekanisme Kerja Ellagitannin Terhadap Protein Kinase A pada Sel Kanker

Payudara

Adapun nantinya ikatan ellagitannin dengan PKA ini dapat membantu kerja dari doxorubicin sebagai agen kokemoterapi kanker payudara walaupun jalur kerja ikatan ellagitannin dengan PKA ini berbeda dengan doxorubicin. Doxorubicin bekerja dalam dua mekanisme antara lain interkalasi ke dalam DNA dan mengganggu perbaikan DNA mediator topoisomerase-II serta pembentukan radikal bebas yang berujung pada pengrusakan membran sel, DNA, dan protein.

Singkatnya, doxorubicin dioksidasi menjadi semiquinon, metabolit yang tidak stabil, yang diubah kembali menjadi doxorubicin dalam proses pelepasan spesies oksigen reaktif. Spesies oksigen reaktif dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran, kerusakan DNA, stres oksidatif, dan memicu jalur apoptosis kematian sel. Cara alternatifnya, doxorubicin dapat memasuki inti dan racun topoisomerase-II, juga mengakibatkan kerusakan DNA dan kematian sel.

(Caroline, et al. 2012)

Sedangkan berbeda halnya dengan ikatan ellagitannin dengan protein kinase A. Mekanisme molekuler kerusakan membran yang disebabkan oleh ellagitannin tidak diketahui dengan jelas. Namun diketahui bahwa protein kinase A

berada pada membran sel. Berdasarkan hasil dockingnya yang diatas batas minimal yaitu -8.6 kcal/mol, yang dapat diartikan sebagai ikatan kuat, diprediksi bahwa ellagitannin dapat menjadi protein kinase A inhibitor yang potensial sehingga menyebabkan terkendalanya siklus sel kanker maupun ekspresi gen dan protein pemicu kanker yang dikendalikan oleh protein kinase A. Intinya, protein kinase A memiliki peran utama dalam siklus sel. Dari penelitian ini diharapkan dengan diketahuinya ikatan yang kuat antara ellagitannin dengan protein kinase A, ikatan ellagitannin dengan protein kinase A mampu menjadi terapi kombinasi kanker payudara bersama doxorubicin dengan jalur yang berbeda dan kerja yang berbeda.

6.4 Penelitian Mengenai Doxorubicin dengan Protein Kinase A

Penelitian mengenai doxorubicin dengan PKA secara insilico belum diketahui. Namun dalam penelitian oleh Shaobin Wang, dkk (2012) secara in vivo menyatakan bahwa doxorubicin dapat menghambat PKA pada asam amino Thr172 setelah 16 jam pengobatan. Pun hasil fosforilasi asam amino Ser79 dari karboksilasi asetil Co-A, yaitu target spesifik dari PKA yang berpotensi juga menurun secara bersamaan.

6.5 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini, peneliti tidak melakukan lebih lanjut mengenai bagaimana proses ellagitannin saat bekerja di dalam tubuh menggunakan metode ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity) karena keterbatasan waktu untuk menyelesaikan tugas akhir ini.

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ellagitannin mempunyai kemampuan sebagai agen kokemoterapi untuk kanker payudara.

1. Ellagitannin memiliki ikatan yang kuat dengan protein kinase A dan berpotensi sebagai protein kinase A inhibitor.
2. Afinitas ikatan ellagitanin terhadap protein kinase A yaitu sebesar $-8,6$ kcal/mol.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, dapat dikemukakan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara in vivo dan in vitro terhadap ellagitannin dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pertandra* (L.)) yang telah diuji untuk mengetahui potensinya dalam skala laboratorium baik terhadap sel normal maupun sel kanker (khususnya sel kanker).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme kerja ellagitannin terhadap sel kanker payudara secara spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

Anisa Nidyaning T. 2011. Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Fraksi Semipolar Ekstrak Etanol Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq.) Dengan Metode DPPH. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo.

Anonymous, 2012. Globocan, Estimated Cancer Incidence, Mortality, and Prevalence Worldwide in 2012, (Online), (http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx, diakses 21 Agustus 2017)

Anonymous, 2017. World Health Organization, Cancer, (Online), (<http://www.who.int/cancer/en/>, diakses 21 Agustus 2017)

Anonymous, 2017. American Cancer Society, Breast Cancer, (Online), (<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer.html>, diakses 22 Agustus 2017)

Anonymous, 2017. American Cancer Society, Breast Cancer Risk and Prevention, (Online), (<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-and-prevention.html>, diakses 22 Agustus 2017)

Anonymous, 2017. Stanford Cancer Institute, Breast Cancer, (Online), (<http://med.stanford.edu/cancer.html>, diakses 23 Agustus 2017)

Backer, A and Van Den Brink, B., 1965, Flora of Java (Spermatophytes Only), Volume I, N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.

Batori M, Ruggieri M, Chatelou E, Straniero A, Mariotta G, Palombi L, Casella G, Basile M, Casella MC. 2006. Breast cancer in young women: case

report and a review.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16705948/>

Bouker KB, Skaar TC, Riggins RB, Harburger DS, Fernandez DR, Zwart A, Wang A, Clarke R. 2005. Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) exhibits tumor suppressor activities in breast cancer associated with caspase activation and induction of apoptosis.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15878912>

Bruton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L., 2005, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Edition, McGrawHill, Lange.

Brodie A., Sabnis G., Jelovac D. Aromatase and breast cancer. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 2006;102:97–102.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1868399/>

Browning, B. L. 1966. Methods of Wood Chemistry. Vol I, II. New York: Interscience Publishers.

Caretta A. and Mucignat-Caretta C. 2011. Protein Kinase A in Cancer.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3756396/>

Caroline F. Thorn, Connie Oshiro, Sharon Marsh, Tina Hernandez-Boussard, Howard McLeod, Teri E. Klein, and Russ B. Altman. 2006. Doxorubicin pathways: pharmacodynamics and adverse effects.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1868399/>

Childs, A.C., Phaneuf, S.L., Dirks, A.J., Phillips, T., and Leeuwenburgh, 2002, Doxorubicin Treatment in Vivo Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial

Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio, Cancer Research, 62:4592-4598.

Chen H.S., Bai M.H., Zhang T., Li G.D., Liu M. Ellagic acid induces cell cycle arrest and apoptosis through TGF- β /Smad3 signaling pathway in human breast cancer MCF-7 cells. *Int. J. Oncol.* 2015;46:1730–1738. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25647396>.

Dallakyan S, Olson AJ. 2015. Small-molecule library screening by docking with PyRx. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25618350>.

Da'i Muhammad dan D.K. Ika Trisharyanti. 2014. Mekanisme Molekuler Sitotoksitas Ekstrak Daun Jati Belanda Terhadap Sel Kanker. Laporan Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo.

Fajriah, S., Darmawan, A., Sundowo A dan Artanti, N. 2007. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etil Asetat Daun Benalu *Dendrophthoe pentandra* L.Miq yang Tumbuh pada Inang Lobi-Lobi. *Jurnal Kimia Indonesia* 2 (1): 17-20.

Funkhouser, Thomas. 2007. Lecture Protein-Ligand Docking Methods. <https://www.cs.princeton.edu/courses/archive/fall07/cos597A/lectures/docking.pdf>

Gewirtz, D.A., 1999, A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin, *Biochem. Pharmacol.*, 57:727-741.

Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. 2016. Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27165206>

Giampaolo Tortora and Fortunato Ciardiello. 2002. Protein Kinase A as Target
for Novel Integrated Strategies of Cancer Therapy.

<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.2002.tb04332.x/full>

Hagerman, A.E., C.T. Robbins, Y. Weerasuriya, T.C. Wilson, and C. McArthur.
1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range
Management*, 45(1): 57 – 62.

Han, X., Pan, J., Ren, D., Cheng, Y., Fan, P., and Lou, H., 2008, Naringenin-
7-O-glucoside protects against doxorubicin-induced toxicity in H9c2
cardiomyocytes by induction of endogenous antioxidant enzymes,
Food and Chemical Toxicology, 46:3140-3146.

Hayati, E.K., Fasyah, A.G. dan Sa'adah, L. 2010. Fraksinasi dan Identifikasi
Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.).
Alchemy, 4(2): 193 – 200.

Hernawan, U. E dan Setyawan, A. D. 2003. Review: Ellagitannin; Biosintesis,
Isolasi, dan Aktivitas Biologi. *Biofarmasi*, 1(1): 25 – 38.

Ismarani. 2012. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Ramah
Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*, 3(2): 46 –
55

Kalidas Yeturu and Nagasuma Chandra. 2008. PocketMatch: A new algorithm
to compare binding sites in protein structures.

<https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-9-543>

Kementerian Kesehatan RI, 2015, Situasi Penyakit Kanker, Pusat Data dan
Informasi Kementerian Kesehatan RI, Jakarta, hal. 2-3.

Kosuge S, Maekawa T, Saito C, Tanaka T, Kouno I, Ohtsuki K. 2001.

Biochemical characterization of galloyl pedunculagin (ellagitannin) as a selective inhibitor of the beta-regulatory subunit of A-kinase in vitro.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11226880>

Lipińska L, Klewicka E, Sójka M. 2011. The structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24887944>

Mabrurroh, A.I. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Tanin dari Daun Rumpuk

Bambu (*Lophatherum gracile* Brongn) dan Identifikasinya. Skripsi.

Tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam

Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

Malanggia, L. P., Sangia, M. S., Paedonga, J. J. E. 2012. Penentuan

Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah

Alpukat (*Persea americana* Mill.). Jurnal Mipa Unsrat Online, 1(1): 5 –

10.

Manitto, P., Biosintesis Produk Alami. Koensoemardiyah (penerjemah). 1981,

IKIP Press, Semarang, hal 24-28.

<https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo/article/viewFile/423/336>

Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., and Gianni, L. 2004.

Anthracyclins: Molecular Advances and Pharmacologic Developments

in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacol Rev.*, 56:185-228.

Muthi' I., Andy E.W., Navista Sri O.U., dan Rosa A. 2008. Pemanfaatan Benalu

Sebagai Agen Antikanker.

https://www.researchgate.net/publication/237693207_Pemanfaatan_Benalu_sebagai_Agen_Antikanker

Nurfaat, Diantika Luhuri. 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Terhadap Mencit Swiss Webster.

<http://kandaga.unpad.ac.id/Record/IOS3.article-7941/Details>

Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F., 2001. Genetics In Medicine, 6th Ed., Philadelphia, p. 21-22.

Ping Jiang, Atsushi Enomoto, Masahide Takahashi. 2009. Cell biology of the movement of breast cancer cells: Intracellular signalling and the actin cytoskeleton. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19303207>

Raad, A., Kalakech, A & Avache, M. 2012. Breast cancer classification using neural network approach : MLP and RBF. The 13th International Arab Conference on Information Technology ACIT'2012, 15-19.

Robinson, T., Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi. Kosasih Padmawinata (penerjemah). 1995, Penerbit ITB, Bandung, hal. 89-93.

Wang S., Song P., Zou M. 2012. Inhibition of AMP-activated Protein Kinase α (AMPK α) by Doxorubicin Accentuates Genotoxic Stress and Cell Death in Mouse Embryonic Fibroblasts and Cardiomyocytes. <http://www.jbc.org/content/287/11/8001.long>

Sitompul dan Jessy M.D. 2016. Isolasi Senyawa Flavonoida Dari Daun Tumbuhan Benalu Nangka (*Macrosolen Cochinchinensis* (Lour). Van Tiegh). <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/66793>

Tortora G. and Ciardiello F. Protein kinase A as target for novel integrated strategies of cancer therapy. Ann. NY Acad. Sci. 2002;968:139-147. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12119273>

Tri Endharti A., Wulandari A., Listyana A., Norahmawati E., Permana S. 2016. *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq extract effectively inhibits

inflammation, proliferation and induces p53 expression on colitis-associated colon cancer.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5037598/>

