

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker

Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasi*) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (*metastasis*). Definisi lain menyatakan kanker adalah penyakit seluler yang pertumbuhannya tidak terkendali karena kehilangan fungsi pada pengaturan sirkulasi proliferasi sel dan penjagaan homeostasis sedangkan sel normal dapat mengendalikan pertumbuhan dan diferensiasi untuk menjaga homeostasis (Hanahan and Weinberg, 2000). Setiap sel yang menyusun tubuh dapat menjadi kanker sehingga dapat mengakibatkan terganggunya keseimbangan fungsi tubuh secara keseluruhan. Perubahan sifat pertumbuhan tersebut disebabkan karena adanya perubahan genetik (*transformasi*), utamanya pada gen yang mengatur pertumbuhan, yaitu onkogen dan tumor suppressor (Meiyanto, 1999).

Pertumbuhan sel kanker lebih bersifat otonom daripada sel normal dan mempunyai keseimbangan positif yaitu jumlah sel yang dibuat lebih banyak daripada jumlah sel yang hilang. Sel kanker mempunyai beberapa sifat morfologik yang spesifik. Inti selnya besar dan berbeda nyata dalam bentuk maupun ukurannya. Kadar asam nukleat dalam inti tinggi dan distribusi kromatin dalam intinya kasar. Sedangkan pola kromosomnya seringkali tetraploid hal ini dikarenakan adanya penambahan kromosom yang tidak teratur (Barl *et al.*, 2004).

Morfologi sel kanker yang berbeda dengan sel normal ada kaitannya dengan kecepatan pertumbuhan tumor. Tumor yang tumbuh lambat seperti misalnya tumor jinak, menunjukkan morfologi yang normal atau hampir normal. Sebaliknya, sel tumor ganas yang tumbuh cepat, morfologinya sangat berbeda dari sel normal, mirip dengan sel yang belum terdeferensiasi. Pertumbuhan yang cepat ini juga menjelaskan mengapa sel tumor ganas hampir seluruhnya terdiri dari inti, dan hanya sedikit mengandung sitoplasma (Suryohudoyo, 2000).

2.2. Karsinogenesis

Proses karsinogenesis merupakan proses terjadinya kanker yang diawali dengan adanya kerusakan DNA atau mutasi pada gen-gen pengatur pertumbuhan, seperti gen *p53* dan *ras* (Hanahan and Weinberg, 2000). Mutasi tersebut umumnya disebabkan karena adanya paparan senyawa karsinogen seperti senyawa golongan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) (misalnya DMBA) yang metabolit aktifnya dapat berikatan dengan DNA (Rundle *et al.*, 2002). Proses menuju terjadinya kanker yang progresif umumnya berjalan lama dan melibatkan perubahan-perubahan genetik lanjut serta perubahan ekspresi gen yang dapat mempengaruhi sifat pertumbuhan sel.

Dasar perubahan seluler yang menyebabkan karsinogenesis adalah adanya perubahan basa DNA dari sel target yang biasa dikenal dengan mutasi (King, 2000). Menurut Silalahi (2006) mutasi yang terjadi pada DNA di dalam gen yang meregulasi siklus sel (pertumbuhan, kematian dan pemeliharaan sel) akan

menyebabkan penyimpangan siklus sel, dan salah satu akibatnya adalah pembentukan kanker atau karsinogenesis.

Sebagian besar kanker disebabkan oleh faktor-faktor ekstrinsik, yaitu semua karsinogen lingkungan (karsinogen kimia, radiasi dan virus) dan faktor-faktor yang mengubah kondisi kesehatan seseorang, misalnya ketidak-seimbangan hormonal dan kekurangan zat tertentu dalam makanan. Faktor genetik dan faktor psikogenik juga mempunyai peranan menentukan kemungkinan seseorang untuk menderita kanker. Beberapa kanker mempunyai satu faktor yang dominan sebagai penyebabnya. Pertumbuhan kanker dapat dibagi dalam tiga fase utama yaitu fase inisiasi, promosi dan progresi (Kartawiguna, 2001).

Inisiasi merupakan stadium pertama dan merupakan hasil dari adanya perubahan genetik yang menyebabkan terjadinya proliferasi abnormal dari satu sel. Tahap inisiasi merupakan tahap yang diperlukan untuk pembelahan sel. Pada tahap ini terjadi perubahan genetik yang menetap akibat rangsangan bahan atau agen inisiator yang menimbulkan kerusakan DNA dan sel. Kerusakan DNA dan sel yang terjadi bersifat *irreversible*, respon sel yang termutasi berubah terhadap lingkungan dan tumbuh secara berlebihan sehingga berpotensi sebagai sel kanker. Jika sel normal berproliferasi secara berlebihan dan berkembang menjadi sel kanker maka sel tersebut akan memasuki tahap promosi (Saputra, 2010).

Stadium **promosi**, merupakan tahap yang kedua dari proses karsinogenesis. Promosi adalah proses yang menyebabkan sel terinisiasi berkembang menjadi sel preneoplasma oleh stimulus zat lain (promotor). Sel terinisiasi dapat tetap tenang bila tidak dihidupkan oleh zat yang disebut

promotor. Promotor sendiri tidak dapat menginduksi perubahan ke arah neoplasma sebelum bekerja pada sel terinisiasi (Kartawiguna, 2001). Perbedaan antara tahap inisiasi dan tahap promosi adalah sifat tahap promosi yang *reversible* artinya risiko timbulnya kanker akan hilang bila promotornya dihilangkan. Mungkin sifat yang *reversible* inilah yang menyebabkan pada tahap promosi ini terjadi penghambatan karsinogenesis secara kemopreventif, termasuk perubahan gaya hidup dan diet (Saputra, 2010).

Tahap akhir dari pertumbuhan sel kanker adalah **progresi**. Bagian yang paling penting dari tahap ini adalah invasi sel kanker sampai ke jaringan lokal dan menyebar ke tempat yang lebih jauh (metastase). Tahap ini bersifat *reversible* (Saputra, 2010). Stadium progresi lebih sering terjadi dari sel promosi, ditandai munculnya neoplasma ganas diikuti perubahan genetik nyata yang melibatkan perubahan struktur dalam inti sel. Jika stadium promosi adalah stadium yang potensial untuk maksud pencegahan terhadap perkembangan kanker, maka stadium progresi harus diobati dengan harapan kesembuhan. Pada tahap ini populasi sel tumor sepenuhnya adalah maligna (Pitot, 1993). Pada stadium progresi terdapat dua fase yaitu fase prevaskuler dan fase vaskuler. Pada fase vaskuler disebut juga fase **metastasis**, yaitu tahap perkembangan tumor yang bersifat maligna dan terjadinya pelepasan sel-sel tumor ganas dari koloni primernya. Sel-sel tumor ganas ini dapat memasuki saluran pembuluh darah sehingga dapat menyebar ke seluruh tubuh dan berkembang di tempat yang jauh (Schneider, 1997).

2.3. Karsinogenesis pada kanker *mammae* oleh karsinogen DMBA

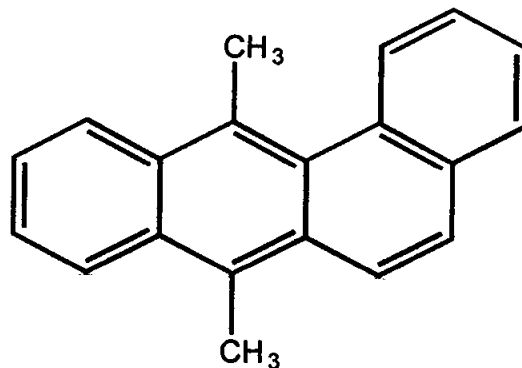
Pengetahuan tentang karsinogenesis pada kanker *mammae* diawali dengan penelitian pada hewan coba tikus yang diamati secara periodik perkembangan patogenesisnya. Perkembangan kanker diamati dengan cara palpasi dan pengambilan darah kapiler setiap minggu mulai minggu ke-4 sampai minggu ke-13 setelah pemberian DMBA. Pada akhir eksperimen semua tumor yang dapat dipalpasi dan yang tidak dapat dipalpasi dieksisi dan selanjutnya dimasukkan ke dalam formalin 10% lalu siap dianalisis secara histopatologi (Appelt dan Reicks, 1999).

Saat ini diketahui bahwa banyak senyawa alam dan sintetik, sisa-sisa industri batu bara, industri minyak, zat warna, bahan makanan dan minuman serta asap rokok mengandung senyawa karsinogen. Diperkirakan 80% penyakit kanker manusia disebabkan oleh faktor-faktor lingkungan, khususnya zat kimia yang bersifat karsinogenik (Crank, 1992).

Salah satu senyawa karsinogen penyebab kanker adalah golongan *polisiklik aromatik hidrokarbon*. PAH merupakan kontaminan yang umum pada udara, air, tanah, serta merupakan hasil konjugasi dari agen radikal bebas selama proses pembakaran yang tidak sempurna dari minyak bumi dan batubara. Senyawa PAH akan dimetabolisme dalam tubuh menjadi bentuk epoksida yang reaktif. Senyawa reaktif ini akan mudah berikatan kovalen dengan makromolekul jaringan termasuk DNA (Nebert *et al.*, 2004).

Banyak senyawa dari golongan PAH yang sering digunakan dalam percobaan karsinogenesis. Umumnya senyawa golongan ini merupakan produk

pyrolisis dari minyak, bahan-bahan biologi, turunan tembakau, pembakaran batubara dan gas. Salah satu senyawa PAH adalah *7,12-dimetilbenz(a)antrasen* (DMBA). DMBA sudah banyak dipakai sebagai senyawa karsinogen dalam berbagai penelitian sebelumnya untuk menginduksi kanker payudara tikus (Singletary *et al.*, 1997; Anderson *et al.*, 1999 ; Kubatka *et al.*, 2002). Struktur kimia DMBA memiliki 4 cincin aromatik yang berikatan, khas struktur PAH dengan tiga atau lebih cincin aromatik dan 2 substituent metal (Gambar 2.1) (Pitot and Dragan, 2001).



Gambar 2.1. Struktur kimia *7,12-dimetilbenz(a)antrasen* (DMBA) (Pitot and Dragan, 2001)

DMBA termasuk dalam kategori karsinogen sekunder. DMBA akan berubah menjadi bentuk ultimate karsinogen setelah mengalami metabolisme. Reaktivitas DMBA dapat meningkat karena adanya perubahan struktur menjadi bentuk kationik elektrofil dan atau radikal bebas. Pembentukan kationik elektrofil ini merupakan hasil esterifikasi DMBA oleh sulfotransferase menjadi benzilic carbonium (Gregus and Klaasen, 2001).

Mekanisme aktivasi DMBA melibatkan enzim sitokrom P-450 dan atau peroksidase menjadi intermediate reaktif yang dapat merusak DNA yaitu

terbentuknya epoksid dihidrodiol dan kation radikal. Epoksid dihidrodiol akan mengikat gugus amino ekosiklik purin DNA secara kovalen menjadi bentuk *adduct* stabil, sedangkan kation radikal akan mengikat N7 atau C8 purin menjadi bentuk *adduct* tidak stabil yaitu depurinisasi menjadi tempat yang kehilangan apurinik pada DNA. Jalur epoksid dihidrodiol inilah yang bertanggungjawab terhadap inisiasi tumor oleh karsinogen DMBA daripada bentuk kation radikal (Kannan *et al.*, 2008).

2.4 Tinjauan Histologi kelenjar *mammae* normal dan yang terkena kanker *mammae*

Kelenjar *mammae* adalah kelenjar yang kompleks, yang pada dasarnya merupakan kelenjar sudorifera yang kemudian mengalami modifikasi tinggi yang spesifik dan menghasilkan air susu pada betina. Pertumbuhan kelenjar *mammae* meningkat menjelang pubertas akibat pengaruh rangsangan hormon, dengan berlangsungnya kebuntingan maka pertumbuhan ditingkatkan secara nyata dan mencapai puncaknya pada periode laktasi, sesaat setelah partus. Kelenjar *mammae* merupakan kelenjar tubulo alveolar majemuk yang terdiri dari stroma yaitu rangka dasar yang merupakan jaringan ikat, parenkim yaitu bagian epitel seperti mioepitel dan epitel sekresi, saluran-saluran pembuluh darah dan limfe, jaringan syaraf serta jaringan lunak (Dellman dan Brown., 1992)

Alveoli dibungkus oleh epitel kubus yang bervariasi tinggi pada berbagai stadium sekresi. Alveoli dan salurannya dikelilingi oleh sel kontraktile mioepitel yang disebut sel keranjang (sel basket), membentuk kubus untuk menampung hasil sekresi sebelum disalurkan keluar alveoli. Produksi air susu yang

berkesinambungan menyebabkan lumen alveoli akan membesar. Tubulo alveolar membentuk lobular yang dipisahkan oleh jaringan ikat. Sistem penyaluran air susu berawal dari dalam lobulus sebagai duktus intralobularis, epitelnya berbentuk kubus sebaris tanpa aktivitas sekresi, setelah saluran melalui septa jaringan ikat interlobularis yang terdiri dari dua lapis sel berbentuk kubus terdapat serabut otot polos yang memanjang berkaitan dengan saluran tersebut, setelah bergabung dengan saluran yang lain membentuk duktus laktiferus. Lapisan epitel kubus tersebut berlanjut pada saluran yang lebih besar dan otot polos semakin jelas. Duktus laktiferus bermuara ke dalam sinus laktiferus di dasar puting susu, kemudian dari sinus laktiferus berlanjut ke permukaan luar puting susu. Sel interstisial pada kelenjar *mammae* memiliki struktur penunjang penting untuk unit sekretori yang mengandung pembuluh darah, limfe dan syaraf. Di dalam tiap unit sekretori terdapat jaringan ikat longgar dengan ikatan pembuluh darah dan limfe secara ekstensif, serta sel plasma dan limfosit (Dellman dan Brown, 1992).

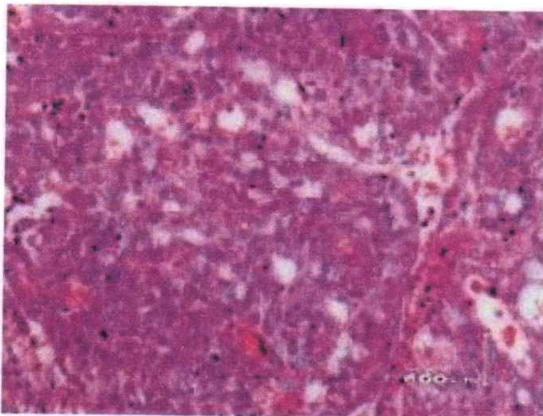
Pada kelenjar *mammae* normal nonlaktans ditandai dengan adanya banyak jaringan ikat dan sedikit unsur kelenjar. Lobulus mengandung kelompok-kelompok tubuli kecil yang dilapisi epitel kuboid atau silindris rendah. Tubuli ini mirip duktus dan tetap dalam tahap ini selama kelenjar *mammae* ini tidak aktif. Mungkin terdapat sedikit perubahan siklik pada kelenjar *mammae*, tetapi kelenjar ini mengalami regresi pada akhir siklus menstruasi. Kadang-kadang terlihat tubulus yang lebih nyata, seperti duktus intralobular kecil atau duktus ekskretorius intralobular besar yang keluar lobulus untuk bersatu dengan duktus interlobular. Tubuli ekskretorius dikelilingi jaringan ikat intralobular longgar dan halus yang

mengandung fibroblast, limfosit, sel plasma, dan eosinofil. Daerah ini dikelilingi oleh jaringan ikat padat interlobular dan jaringan lemak (Eroschenko, 2001).



Gambar 2.2. Gambaran kelenjar *mammae* normal nonlaktans dengan pewarnaan H.E dengan perbesaran 400x (Eroschenko, 2001).

Pada kelenjar *mammae* tikus yang terkena kanker *mammae* setelah inisiasi DMBA secara mikroskopis menunjukkan terjadinya proliferasi berat dari epitel acini kearah lumen acini, ukuran epitel acini bervariasi disertai ditemukan gambaran mitosis. Masa tumor yang solid (padat) terlihat sebagai lobulus dari tumor sel yang dipisahkan oleh jaringan ikat tipis. Perkembangan neoplasma berlanjut sampai pada tahap progresi yang menetap (Hamid, 2010)



Gambar 2.3. Gambaran kelenjar *mammae* yang terkena kanker *mammae* setelah inisiasi DMBA (Hamid, 2010)

2.5 Tinjauan tentang *Grading* dan *Staging*

Perubahan histopatologi kelenjar *mammae* adalah perubahan tingkat mikroskopik pada kelenjar *mammae*. Metode penilaian gambaran histopatologi kelenjar *mammae* (*Grading*) berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Elston and Ellis, 1991

Penilaian dari metode semikuantitatif untuk *grading* histopatologis adalah dengan menilai kanker dari tiga parameter, yaitu : formasi tubulus, variasi aktivitas nukleus dan mitosis yang kemudian setiap elemen yang dinilai atau di skor diberi nilai 1-3. Dilihat dalam 5 lapang pandang yang kemudian skornya di rata-rata dan diberi rentang skor sama dengan nilai angka romawi (Rezaie *et al*, 2009).

1. Formasi Tubulus : untuk menilai formasi tubulus, struktur kualitatif tubular harus menunjukkan pusat lamina jelas, semua bagian dari setiap blok tumor diberi skor yang dilihat dari struktur tubular yang dinilai secara semikuantitatif. Skor satu jika >75% dari daerah tersebut terdiri dari tubulus yang normal. Skor dua jika tumor antara 10 dan 75% dari lapang pandang yang menunjukkan formasi tubulus. Skor tiga jika tubulus yang nampak <10%.
2. Nuclear *pleomorfisme* : skor 1 jika inti tumor kecil, dengan peningkatan sedikit atau variasi ukuran dibandingkan dengan inti normal dan memiliki garis reguler dan keseragaman kromatin. Skor 2 diberikan bila inti lebih besar dari normal, memiliki inti vesikuler lebih terbuka yang terlihat, biasanya tunggal, nukleolus dan terdapat variasi dalam ukuran dan bentuk.

Sebuah variasi yang nyata pada ukuran dan bentuk, terutama ketika inti yang sangat besar dan aneh terlihat pada skor 3, lebih jauh lagi adalah inti vesikuler dengan nukleoli membesar dan sering beberapa menonjol.

3. Jumlah mitosis : skor 1 jika dalam satu lapang pandang terdapat 0 – 7 mitosis. Dalam satu lapang pandang terdapat 8 – 16 (skor 2). Dan jika dalam satu lapang pandang terdapat >17 (skor 3).

2.6 Tinjauan Tentang Daun Salam (*Eugenia polyantha*)

2.6.1. Klasifikasi Daun Salam (*Eugenia polyantha*)

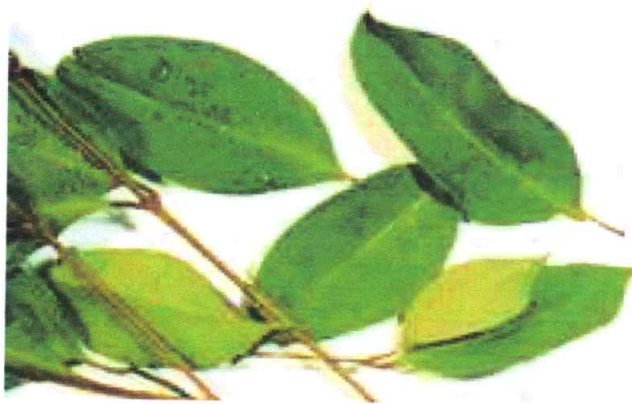
Menurut Tjitrosoepomo (1996) daun salam (*Eugenia polyantha*) diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Klas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Genus	: Eugenia
Spesies	: <i>Eugenia polyantha</i>

2.6.2. Morfologi Tanaman

Salam tumbuh liar di hutan dan pegunungan, atau ditanam di pekarangan dan sekitar rumah. Pohon ini dapat ditemukan di daerah dataran rendah hingga ketinggian 1400 meter. Tinggi pohon salam mencapai 25 meter, batang bulat,

permukaan licin, bertajuk rimbun dan barakar tunggang. Daun tunggal, letak berhadapan panjang tangkai daun 0,5-1 cm. Daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur sungsang, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah berwarna hijau muda, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, jika diremas berbau harum. Bunga majemuk tersusun dalam malai yang keluar dari ujung ranting, berwarna putih, baunya harum. Buahnya bulat, diameter 8-9 mm, buah muda berwarna hijau, setelah masak menjadi merah gelap, rasanya agak sepat. Biji bulat, diameter sekitar 1 cm, berwarna cokelat. Pohon salam ditanam untuk diambil daunnya sebagai pelengkap bumbu dapur, sedangkan kulit pohonnya digunakan sebagai bahan pewarna jala dan buahnya dapat dimakan. Pohon salam dapat pula diperbanyak dengan biji, cangkok, atau setek (Dalimatha, 2003).



Gambar 2.3. Daun Salam (*Eugenia polyantha*) (Sumono and Wulan, 2009)

2.6.3. Nama Daerah

Di Indonesia tanaman ini memiliki beberapa nama daerah seperti : Meselanagan (Sumatra), ubar serai (Melayu), gowok (Sunda), manting, salam (Jawa), salam (Madura) (Dalimatha, 2003).

2.6.4. Nama Lain

Nama lain dari *Eugenia polyantha* adalah *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp, *Eugenia lucidula* Miq. (Tjitrosoepomo, 1996).

2.6.5. Daerah Distribusi dan Habitat

Terdapat di Birma ke arah selatan sampai Indonesia. Di Jawa tumbuh di Jawa Barat sampai Jawa Timur pada ketinggian 5 m sampai 1.000 m di atas permukaan laut. Pohon Salam dapat tumbuh di dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1800 m, banyak tumbuh di hutan maupun rimba belantara (Dalimarta, 2003).

2.6.6 Kandungan Kimia

Menurut Suyekti dkk (1994) hasil uji fotokimia ekstrak kasar daun salam dan fraksi-fraksinya, menunjukkan adanya lima golongan senyawa yaitu saponin, terpenoid, steroid, flavonoid dan tannin. Menurut Sudarsono dkk (2002) juga menyebutkan minyak atsiri dalam daun salam terdiri dari seskuiterpen, lakton dan fenol.

Kandungan kimia lain *Eugenia polyantha* yaitu tanin, minyak atsiri, seskuiterpen, triterpenoid, fenol, steroid, sitral, lakton, saponin, dan karbohidrat. Kandungan kimia lainnya yaitu Thiamin, Riboflavin, Niacin, vitamin B6, vitamin B12, dan folat. Bahkan mineral seperti selenium terdapat di dalam kandungan daun salam (Pidrayanti, 2008). Selain itu daun salam juga mengandung beberapa vitamin, di antaranya vitamin C, vitamin A, vitamin E yang berfungsi sebagai

antioksidan (Riansari, 2008).

Vitamin C dan E merupakan antioksidan yang berupa mikronutrien. Vitamin E ini yang larut dalam lemak ini merupakan antioksidan yang melindungi komponen sel serta membran sel dari oksidasi oleh radikal bebas. Sedangkan fungsi dari vitamin C yaitu sebagai antioksidan yang dapat melindungi molekul-molekul yang sangat diperlukan oleh tubuh, seperti protein, lipid, asam nukleat dan karbohidrat dari kerusakan oleh radikal bebas (Lelono *et al.*, 2009).

Flavonoid yang terkandung dalam daun salam, selain memberikan aroma yang khas, juga diketahui memiliki efek antioksidan (Kwang-Geun dan Shibamoto, 2001). Flavonoid tersebut merupakan senyawa fenolik alam yang memiliki sifat antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas dengan melakukan reaksi oksidasi di dalam sel dan berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan sel kanker (Meiyanto dkk., 2007).

Senyawa flavonoid dapat menghambat proliferasi melalui inhibisi proses oksidatif yang dapat menyebabkan inisiasi kanker. Mekanisme ini diperantarai penurunan enzim *xanthin oksidase*, *siklooksigenase* (COX) dan *lipooksigenase* (LOX) yang diperlukan dalam proses peroksidasi sehingga menunda siklus sel/*cell cycle arrest* (Ren *et al.*, 2003). Sebagian besar flavonoid telah terbukti mampu menghambat proliferasi pada berbagai sel kanker pada manusia namun bersifat tidak toksik pada sel normal manusia (Ren *et al.*, 2003).

Senyawa golongan flavonoid mampu menghambat proses karsinogenesis baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penghambatan terjadi pada tahap inisiasi, promosi maupun progresi melalui mekanisme molekuler antara lain inaktivasi

senyawa karsinogen, antiproliferatif, penghambatan angiogenesis dan daur sel, induksi apoptosis, dan aktivitas antioksidan (Ren *et al.*, 2003). Sifat antioksidan dari senyawa flavonoid juga dapat menghambat proses karsinogenesis. Fase inisiasi kanker seringkali diawali melalui oksidasi DNA yang menyebabkan mutasi oleh senyawa karsinogen (Kakizoe, 2003). Karsinogen aktif seperti radikal oksigen, peroksida dan superoksida, dapat distabilkan oleh flavonoid melalui reaksi hidrogenasi maupun pembentukan kompleks (Ren *et al.*, 2003).