

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sirsak

Sirsak (*Annona muricata L.*) merupakan salah jenis tanaman dari familia *Annonaceae* yang mempunyai manfaat besar bagi kehidupan manusia, yaitu sebagai tanaman buah yang syarat dengan gizi dan merupakan bahan obat tradisional yang memiliki multikhasiat (Jannah, 2010). Tanaman ini dapat tumbuh pada ketinggian sampai 1200 m dari permukaan laut. Tanaman sirsak akan tumbuh sangat baik pada keadaan iklim bersuhu 22-28°C, dengan kelembaban dan curah hujan berkisar antara 1500-2500 mm per tahun (Herliana dan Rifai, 2011).

Tanaman sirsak memiliki dasar bunga berbentuk cekung dan benang sarinya banyak. Tangkai putik dengan bentuk silindris. Buah majemuk tidak beraturan dengan bentuk seperti telur miring atau bengkok dengan panjang buah 15-35 cm dan lebar buah 10-15 cm. Bijinya berwarna hitam dan daging buah berwarna putih. Kandungan kimia dalam tanaman sirsak (*Annona muricata L.*) yang memiliki famili *Annonaceae* ini adalah alkaloid, glikosida antra kuinon, polifenol, saponin, flavonoid, dan tanin (Amelia dkk., 2012).

Tanaman sirsak (*Annona muricata L.*) termasuk tanaman tahunan dengan sistematika sebagai berikut :

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledonae

Famili : Annonaceae

Genus : Annona

Spesies : *Annona muricata L.* (Herliana dan Rifai N, 2011).



Gambar 3. Daun Sirsak (Sumber: Zuhud,2011)

2.2 Payudara

2.2.1 Anatomi dan Fisiologi Payudara

Payudara adalah sebuah organ yang berisi kelenjar untuk reproduksi sekunder serta berasal dari lapisan ektodermal. Kelenjar ini dinamakan sebagai kelenjar payudara dan merupakan modifikasi dari kelenjar keringat. Payudara terletak di bagian superior dari dinding dada. Pada wanita, payudara adalah organ yang berperan dalam proses laktasi, sedangkan pada pria organ ini tidak berkembang dan tidak memiliki fungsi dalam proses laktasi seperti pada wanita (Van De Graaff, 2002).

Proses perkembangan payudara dimulai pada janin berumur 6 minggu yaitu terjadi penebalan lapisan epidermis pada bagian ventral, superfisial dari fasia pektoralis serta otot-otot pektoralis mayor dan minor. Penebalan yang terjadi pada venteromedial dari regio aksila sampai ke regio inguinal menjadi *milk lines* dan selanjutnya pada bagian superior berkembang menjadi puting susu dan bagian lain menjadi atrofi (Van De Graaff, 2002).

Payudara lazimnya terletak di antara tulang sternum bagian lateral dan lipatan ketiak, serta terbentang dari iga ke 2 sampai iga ke 6 atau 7. Pada bagian puncak dari payudara terdapat struktur berpigmen dengan diameter 2-6 cm yang dinamakan areola. Warna areola itu sendiri bervariasi mulai dari merah muda sampai coklat tua. Warna areola ini

bergantung pada umur, jumlah paritas, dan pigmentasi kulit (Djamaloedin, 2008).

Payudara pada wanita dewasa disusun oleh sistem kelenjar, duktus, dan stroma yang terdiri dari jaringan ikat fibrosa dan jaringan lemak. Setiap payudara terdiri dari 15-20 lobus. Bagian dasar dari setiap lobus tersebut berada di daerah proksimal dekat tulang iga sedangkan bagian puncaknya adalah puting yang merupakan muara dari duktus setiap lobus. Setiap duktus laktiferus akan bergabung menjadi sinus laktiferus dan akhirnya bermuara pada puting (Junqueira dan Carneiro, 2007).

Diantara kelenjar susu dan fascia pektoralis serta diantara kulit dan kelenjar payudara terdapat jaringan lemak. Diantara lobulus terdapat ligamentum *Cooper* yang memberi rangka untuk payudara. Setiap lobulus terdiri dari sel-sel asini yang terdiri dari sel epitel kubus dan mioepitel yang mengelilingi lumen. Sel epitel mengarah ke lumen, sedangkan sel mioepitel terletak diantara sel epitel dan membran basalis (Sjamsuhidajat dan De Jong, 2005).

Payudara wanita mengalami tiga jenis perubahan yang dipengaruhi oleh hormon. Perubahan pertama dimulai dari masa hidup anak melalui masa pubertas sampai menopause. Sejak pubertas, estrogen dan progesteron menyebabkan berkembangnya duktus dan timbulnya sinus. Perubahan kedua, sesuai dengan daur haid. Beberapa hari sebelum haid, payudara akan mengalami pembesaran maksimal, tegang, dan nyeri. Oleh karena itu pemeriksaan payudara tidak mungkin dilakukan pada saat ini.

Perubahan ketiga terjadi pada masa hamil dan menyusui. Saat hamil payudara akan membesar akibat proliferasi dari epitel duktus lobul dan duktus alveolus, sehingga tumbuh duktus baru. Adanya sekresi hormon prolaktin memicu terjadinya laktasi, alveolus menghasilkan ASI dan disalurkan ke sinus kemudian dikeluarkan melalui duktus ke puting susu (Sjamsuhidajat dan De Jong, 2005).

2.2.2 Tumor Payudara

Tumor atau dalam istilah medis disebut sebagai neoplasma, secara harafiah berarti pertumbuhan baru. Neoplasma merupakan massa abnormal jaringan yang pertumbuhannya berlebihan dan tidak terkoordinasi dengan pertumbuhan jaringan normal serta terus demikian, walaupun rangsangan yang memicu perubahan tersebut telah berhenti. Hal mendasar tentang asal neoplasma adalah hilangnya responsivitas terhadap faktor pengendali pertumbuhan yang normal (Kumar dkk., 2007).

Tumor dapat muncul pada berbagai organ tubuh manusia dalam bentuk pembesaran organ seperti pada otak, paru, tulang, ovarium, serviks, payudara, dan lain-lain. Namun, angka morbiditas dan mortalitas tumor ganas (kanker) cenderung lebih tinggi bila dibandingkan dengan tumor yang masih dalam kondisi jinak. Tumor payudara adalah benjolan tidak normal akibat pertumbuhan sel yang terjadi secara terus-menerus (Kumar dkk., 2007). Kelainan payudara berasal dari sel kelenjar,

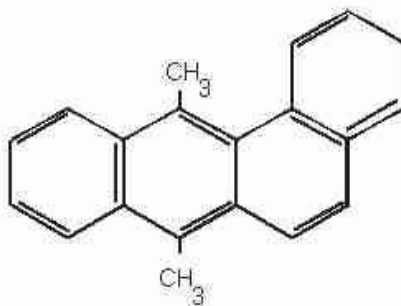
saluran kelenjar, dan jaringan penunjang payudara. Kelainan ini biasanya mengambil bentuk massa atau nodus yang dapat diraba dan kadang-kadang nyeri. Sebagian besar lesi bersifat jinak, namun dapat berkembang ke arah keganasan. Proses pembentukan sel-sel normal menjadi sel-sel tumor hingga menjadi keganasan disebut dengan onkogenesis. Faktor yang berperan dalam onkogenesis secara genetik adalah onkogen dan *tumor suppressor gen* (Osborne dkk., 2004).

Selain akibat perubahan genetik, kanker payudara juga dapat terjadi akibat pengaruh hormonal dan lingkungan. Kelebihan estrogen endogen atau ketidakseimbangan hormon ini dapat berpengaruh menimbulkan kanker payudara. Banyak dari faktor resiko seperti masa reproduksi dengan durasi yang lama nulliparitas, kehamilan pertama pada usia tua dapat meningkatkan paparan estrogen selama siklus menstruasi. Estrogen menstimulasi produksi faktor pertumbuhan oleh sel epitel payudara normal dan sel kanker. Dihipotesiskan bahwa reseptor estrogen (ER) dan progesteron (PgR) secara normal terdapat pada epitel payudara dan sering juga terdapat pada sel kanker payudara. Reseptor ini kemungkinan berinteraksi dengan promotor pertumbuhan seperti *transforming growth factor α* (berkaitan dengan epithelial growth factor), *platelet-derived growth factor* dan *fibroblast growth factor*. Mekanisme ini dipacu oleh sel kanker payudara untuk menghasilkan mekanisme autokrin pada perkembangan tumor (Kumar dkk., 2007).

2.3 7,12-dimetilbenz(a)antrasen(DMBA)

Senyawa 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) adalah zat kimia yang termasuk dalam polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) yang dikenal bersifat karsinogenik, mutagenik, teratogenik, sitotoksik, dan immunosupresif. Senyawa ini ditemukan pada pecahan tar dari asap rokok, sebagaimana pada gas pembuangan mobil dan asap dari tungku perapian (Yu dkk., 2005).

Menurut *Division of Occupational Health and Safety National Institutes of Health*, DMBA yang mempunyai 4 cincin benzen termasuk dalam tujuh PHA yang dapat menyebabkan kanker pada manusia (Al-Attar,2004). DMBA memiliki rumus empiris $C_{20}H_{16}$ dan memiliki berat molekul 256,34 g/mol. DMBA berbentuk padat, berwarna kuning kehijau-hijauan (Brennan, 2010).

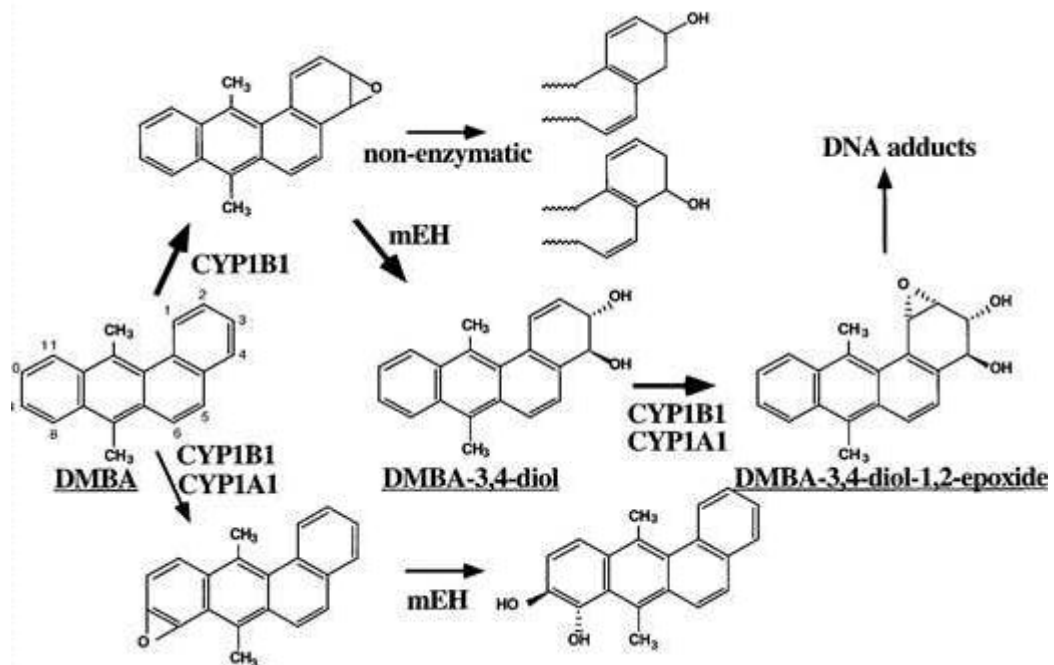


Gambar 4. Struktur DMBA (Sumber: Brennan, 2010)

Pada penelitian sebelumnya dibuat model karsinoma glandula mammae dengan hewan model tikus putih galur *Sprague dawley*, yang diinduksi dengan karsinogen kimiawi DMBA. Karsinogen kimiawi ini mampu menginduksi terjadinya kanker pada glandula mammae dengan histopatogenesis yang mirip

dengan histopatogenesis yang terjadi pada manusia (Meiyanto dkk., 2007). Penelitian karsinogenesis glandula mammae dengan menggunakan aplikasi DMBA secara oral pada tikus *Sprague dawley* merupakan model lesi malignansi glandula mammae pada manusia (Hakkak, 2005).

DMBA memiliki reseptor spesifik yang bernama *aryl hydrocarbon receptor* (AHR). Reseptor ini merupakan protein yang dapat berikatan dengan kontaminan lingkungan seperti struktur PAH dan derivat halogen. Ada banyak AHR di dalam tubuh manusia seperti di kelenjar reproduksi, terutama di kelenjar payudara (Androutsopoulos dkk., 2009). DMBA merupakan senyawa karsinogen spesifik untuk eksperimental kanker payudara dan kanker kulit pada hewan percobaan, tetapi bukan merupakan karsinogen *direct*. Aktivitas karsinogenik dari DMBA terjadi melalui aktivasi metabolisme (biotransformasi) untuk menghasilkan karsinogenesis. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 membentuk *proximate carcinogen* dan *ultimate carcinogen* (Hatim, 2012).



Gambar 5. Jalur Metabolisme DMBA (Sumber: Androutsopoulos dkk., 2009)

Sitokrom P-450 dan *microsomal epoxide hydrolase* (mEH) memetabolisme DMBA menjadi dua metabolit yaitu metabolit elektrofilik dan metabolit yang mampu membentuk *DNA adduct* (DNA yang berikatan dengan senyawa karsinogenik). Sitokrom P-450 CYP1B1 mengoksidasi DMBA menjadi 3,4-*epoxides* yang diikuti dengan hidrolisis *epoxides* oleh mEH membentuk metabolit *proximate carcinogenic* dan DMBA-3,4-diol. Metabolit ini nantinya dioksidasi oleh CYP1A1 atau CYP1B1 menjadi metabolit *ultimate carcinogenic* (DMBA-3,4-diol-1,2 *epoxide*). Metabolit aktif dari DMBA adalah DMBA- 3,4-diol-1,2 *epoxides* yang mampu membentuk *DNA adduct* (Hakkak,2005).

Metabolit DMBA yang membentuk *DNA adduct* menentukan mutasi dalam gen dan mampu mengendalikan siklus sel, sehingga mendorong pembelahan sel kanker. Senyawa *epoxide* tersebut nantinya akan berikatan secara kovalen

dengan gugus amino eksosiklik deoksiadenosin (dA) atau deoksiguanosin (dG) pada DNA. Interaksi ini (DNA *adduct*) dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan iniasi kanker (Hakkak,2005).

Kemampuan metabolit DMBA yang merupakan *ultimate carcinogen* berikatan dengan DNA salah satunya menyebabkan mutasi somatik dari onkogen Harvey Ras-1 pada kodon 61 kanker payudara dan kanker kulit (Hatim, 2012).

Selain itu, senyawa 7,12-dimetilbenz(α)antrasen (DMBA) pada aktivasi metabolitnya memproduksi karsinogen pokok, yaitu *dihydrodiolepoxide*, yang dapat memediasi transformasi neoplastik dengan menginduksi kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan membentuk *reactive oxygen species* (ROS) berlebihan, serta memediasi proses inflamasi kronis (Manoharan dan Selvan, 2012).

2.4 Stres Oksidatif pada Proses Tumorigenesis

Pada dasarnya, sel normal mempunyai sejumlah mekanisme intrinsik yang melibatkan “*gate keeper*” molekular untuk menghindari diri dari pembelahan yang tak terkontrol pembentukan dan perkembangbiakan tumor dicirikan oleh pembelahan sel yang tidak terkontrol dan hal ini terjadi jika protein khusus yang mengatur pembelahan sel mengalami perubahan fungsi gen, ekspresi atau hilang fungsi dan ekspresinya. Pada manusia, salah satu gen penekan tumor yang berhubungan erat dengan pengendalian siklus sel adalah p53. Gen ini dapat menginduksi *growth arrest* dan atau kematian sel (apoptosis) setelah DNA terkena suatu mutagen. Tumorigenesis diduga merupakan proses

akumulasi perubahan genetik dan epigenetik yang menyebabkan perubahan kontrol molekuler perkembangbiakan sel. Perubahan genetik tersebut dapat berupa aktivasi protoonkogen dan atau inaktivasi gen penekan tumor yang dapat memicu tumorigenesis dan memacu progresinya. Gen penekan tumor seperti p53 berfungsi mempertahankan homeostasis jaringan dengan cara mengontrol pembelahan selular, diferensiasi dan kematian sel terprogram (Devita dan Rosenberg, 2005).

Perubahan onkogen secara genetik oleh *tumor suppressor gen* seperti BRCA1, p53, nm23, dan K-ras yang dapat disebabkan oleh inflamasi dan stres oksidatif. Stres oksidatif disebabkan oleh terganggunya keseimbangan antara radikal bebas oksigen. *Reactive Oxygen Species* (ROS) sebagai produk dalam metabolisme sel normal yang bersifat prooksidatif dengan enzim dan kofaktor yang bersifat antioksidatif. Ketidakseimbangan ini disebabkan karena dua alasan diantaranya karena kelebihan produksi ROS seperti hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal superoksida (O_2), dan radikal hidroksil (OH), atau menurunnya pengeluaran ROS akibat mekanisme pertahanan oksidan. ROS dapat menyebabkan kerusakan komponen selular yaitu lipid, protein, dan DNA, serta berperan dalam multi tahapan proses tumor yaitu inisiasi, promosi, dan progresi (Devita dan Rosenberg, 2005).

Radikal bebas terbentuk melalui berbagai proses fisiologis. Radikal bebas berperan pada proses respirasi oksidatif, proses detoksifikasi oleh sitokrom P450, proses inflamasi, apoptosis, sebagai *second messenger*, dan berbagai proses lain dalam tubuh (Devita dan Rosenberg, 2005).

Respirasi oksidatif merupakan reaksi oksidatif selular yang bertujuan untuk memproduksi adenosin trifosfat (ATP). Reaksi ini memerlukan atom H^+ untuk mengubah adenosin difosfat (ADP) menjadi ATP. Atom H^+ dihasilkan pada tahap terakhir respirasi sel. Atom hidrogen tersebut kemudian berikatan dengan atom oksigen dan membentuk air. Akan tetapi sekitar 4-5 % atom hidrogen dan oksigen tidak membentuk air dan pada akhirnya menimbulkan ROS pada jaringan (Clarkson dan Thompson, 2000).

Reaksi inflamasi merupakan fenomena kompleks yang terdiri dari komponen humoral (sitokin dan kemokin) dan komponen selular seperti limfosit dan granulosit. Respon inflamasi bertujuan untuk menimbulkan lingkungan jaringan yang mendukung perbaikan kerusakan seluler dan menghancurkan benda-benda asing. Pada proses inflamasi ini mediator utama pertahanan imun non spesifik yang disintesis dan disekresikan sel adalah spesies oksigen dan spesies nitrogen seperti OH° , $ONOO^-$, NO° . Senyawa-senyawa tersebut merupakan spesies oksigen yang reaktif (ROS) dan *reactive nitrogen oxide* (RNO) (Clarkson dan Thompson, 2000).

2.5 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas (Asni dkk., 2009). MDA dapat terbentuk apabila radikal bebas hidroksil seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai yang dikenal dengan peroksidasi lemak. Peroksidasi lemak tersebut akan menyebabkan

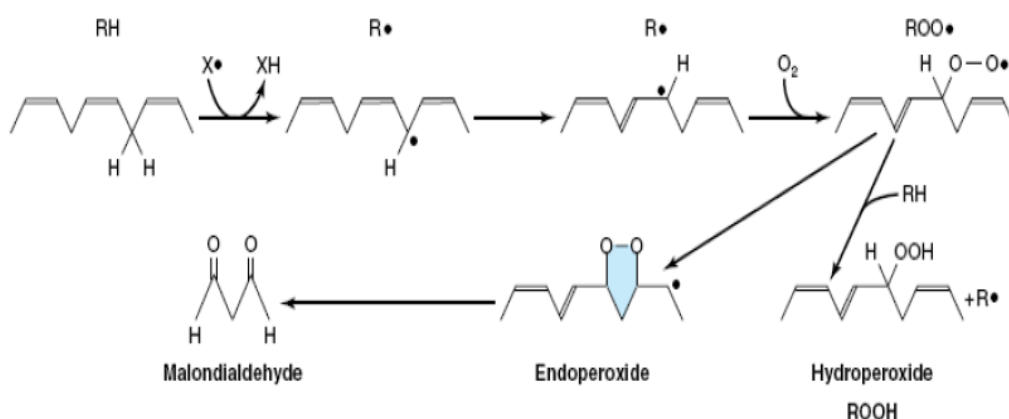
terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa toksik dan menyebabkan kerusakan pada membran sel (Yunus, 2001).

Proses terbentuknya MDA dimulai dari radikal bebas oksigen O_2 yang diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 adalah sel polimorfonuklear, monosit, dan makrofag. Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion Cu^{+2} menjadi H_2O_2 . H_2O_2 ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom dan yang penting. H_2O_2 ini dapat menembus membran sel (O_2 tidak menembus membran sel). Sebagai sistem pertahanan tubuh, H_2O_2 oleh katalase dapat diubah menjadi H_2O dan O_2 . Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. Selain itu H_2O_2 oleh enzim glutathion peroksidase diubah pula menjadi H_2O (Yoshikawa dan Naito, 2002).

Pada stres oksidatif radikal bebas oksigen yang terbentuk tentu berlebihan, begitu juga dengan H_2O_2 yang terbentuk banyak, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase dan glutathion peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Selanjutnya jika H_2O_2 bereaksi dengan dengan Fe^{+2} dan Cu^{+2} maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss (Yoshikawa dan Naito, 2002).

Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid dan glikolipid yang mengandung asam lemak tak jenuh dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka

terhadap radikal hidroksil. Kemampuan radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksida lipid. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemah menjadi senyawa aldehyd yang memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain malondialdehyd, 4-hidroksinenal, etana, dan pentana. Demikian pula dengan DNA dan protein juga mengalami kerusakan yang cukup hebat (Yoshikawa dan Naito, 2002).



Gambar 6. Mekanisme pembentukan MDA (Sumber: Murray dkk., 2003)

2.6 Potensi Ekstrak Etanol Daun Sirsak sebagai Antioksidan

Antioksidan merupakan molekul yang mampu mendonorkan elektron ke molekul disekitarnya terutama zat-zat yang memiliki kemampuan oksidatif. Antioksidan berperan dalam menjaga kadar radikal bebas pada jaringan. Kadar radikal bebas dan antioksidan yang seimbang dapat menurunkan kerusakan seluler akibat reaksi oksidatif. Antioksidan dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan endogen yang diproduksi oleh tubuh dan antioksidan eksogen yang terkandung di dalam makanan. Antioksidan endogen merupakan

senyawa yang memiliki kemampuan menetralkan ROS dan RNOS secara enzimatis. Mekanisme netralisasi antioksidan terutama sebagai *free radical scavenger*. Contoh antioksidan kuat yang berasal dari luar tubuh yaitu; *lycopene*, vitamin E dan C, isoflavon, *resveratrol*, karotenoid, bioflavonoid, selenium, dan antioksidan lainnya (Clarkson dan Thompson, 2000).

Mangan (2009) menyatakan kandungan kimia dari sirsak adalah saponin, flavonoid, tanin, kalsium, fosfor, hidrat arang, vitamin (A, B, dan C), fitosterol, Ca-oksalat, dan alkaloid murisin. Salah satu kandungan kimia sirsak yang berperan penting untuk obat adalah flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder dan keberadaannya pada daun tanaman dipengaruhi oleh proses fotosintesis sehingga daun muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa bahan alam dari golongan fenolik (Sjahid, 2008).

Selain itu, terdapat senyawa bioaktif yang ditemukan pada daun sirsak yaitu *annonaceus acetogenin*. Pada daun sirsak, telah ditemukan 18 jenis *annonaceus acetogenin* dan telah terbukti secara *in vitro* bersifat sitotoksik, dan memiliki kemampuan sitotoksik 10.000 kali lebih kuat daripada terapi kemoterapi. Sifatnya yang sitotoksik ini sangat berguna untuk menyerang sel kanker yang pertumbuhannya sangat cepat di dalam jaringan tubuh. Walaupun sifatnya sitotoksik, namun *annonaceus acetogenin* relatif tidak menyerang sel normal dan hanya menyerang sel kanker secara spesifik (Chiu dkk., 2003).

Mekanisme *acetogenin* adalah menghambat sistem transpor elektron dan oksidasi NADH dari metabolisme sel kanker sehingga menghambat

pembentukan ATP dan akibatnya jumlah ATP berkurang dan akhirnya sel kanker mati (Mclaughkin dkk., 2003). Senyawa flavonoid dapat menghambat proses onkogenesis dengan tiga cara, yang pertama adalah dengan menginduksi apoptosis dan menghentikan siklus sel melalui mekanisme inhibisi enzim topoisomerase, selanjutnya flavonoid juga dapat menghambat aktivitas karsinogen melalui inhibisisitokrom P450 sehingga senyawa karsinogen menjadi tidak reaktif, serta meningkatkan ekspresi enzim *gluthation S-transferase* yang dapat mendetoksifikasi karsinogen sehingga cepat dieliminasi tubuh (Ren dkk., 2003).

Triterpenoid dapat memblokir siklus sel pada fase G2/M dengan menstabilkan benang-benang spindel pada fase mitosis sehingga proses mitosis dapat terhambat. Terpenoid juga dapat memicu apoptosis melalui mekanisme seperti flavonoid (Sugianto dkk., 2003).