

## **BAB II**

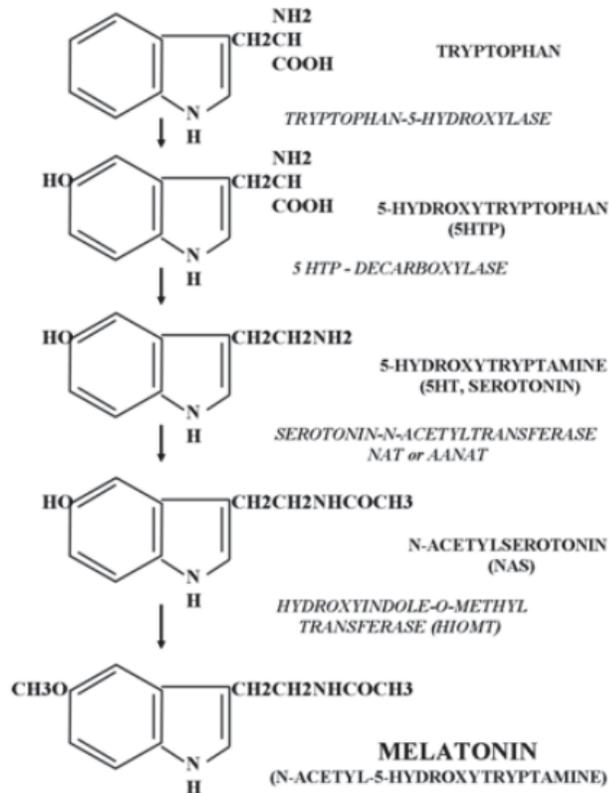
### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Melatonin**

Melatonin (*N-asetil-5-metoksitriptamin*) adalah hormon peptida golongan indolamin yang disintesis oleh kelenjar pineal berfungsi mengatur irama sirkadian (Li *et al.*, 2017). Melatonin memiliki efek radikal bebas, antiinflamasi, dan antioksidan. Melatonin berperan penting dalam neurogenesis, perlindungan saraf, dan pemeliharaan keseimbangan oksidan / antioksidan. Ini memberikan efek antioksidan langsung pada jaringan / organ dan efek antiapoptotik pada sel. Tindakan lain dari melatonin dapat menghambat pelepasan dopamin di hipotalamus dan retina, keterlibatan dalam proses penuaan dan perkembangan pubertas (Hacısevki, 2018).

Biosintesis melatonin berasal dari asam amino L-triptofan yang berada di kelenjar pineal dan beberapa jaringan lainnya seperti gastrointestinal dan limfosit. Pada manusia, kelenjar pineal terletak di sistem saraf pusat, tepatnya di belakang ventrikel III, dibentuk oleh 2 tipe sel utama yaitu pinealosit dan neuroglial. Pinealosit berperan dalam sekresi indolamin (melatonin) dan peptida (seperti arginin vasotosin) (Sandra, 2011).

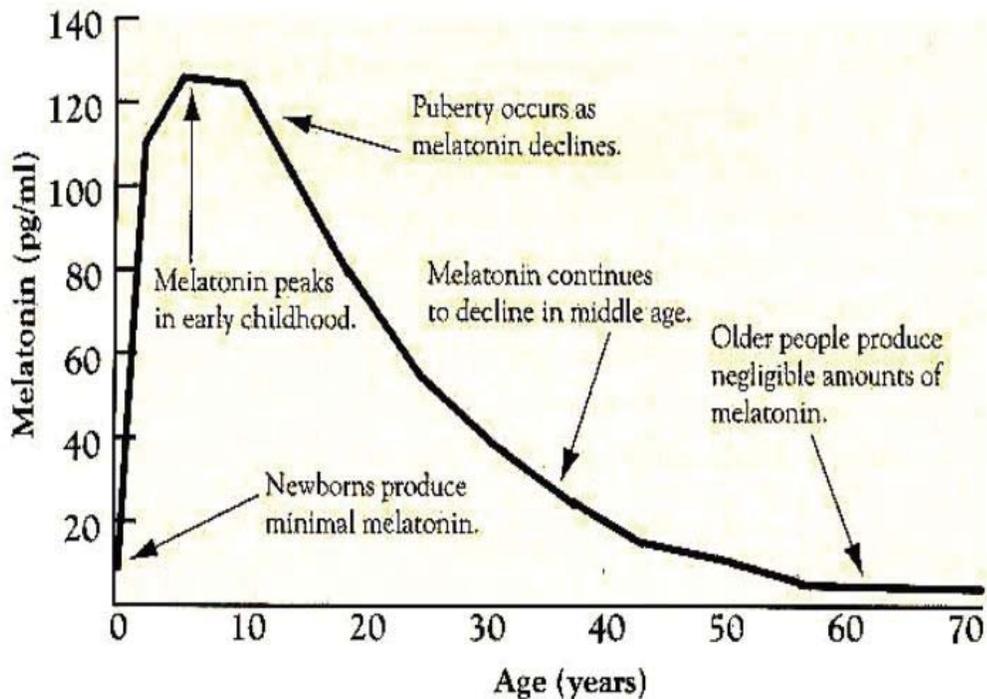
Melatonin pertama kali diidentifikasi dari ekstrak kelenjar pineal sapi pada tahun 1959. Biosintesis melatonin dimulai dari konversi triptofan menjadi 5-hidroksitriptofan dengan bantuan enzim triptofan hidroksilase, selanjutnya di dekarboksilasi menjadi serotonin oleh enzim 5-hidroksitriptofan dekarboksilase. Melatonin akan di sintesis dari serotonin dengan bantuan 2 enzim yaitu arilalkilamin N-asetiltransferase yang akan merubah serotonin menjadi N-asetil serotonin, dan hidroksiindol-O-metiltransferase yang akan merubah N-asetil serotonin (AA-NAT) menjadi N-asetil-5-hidroksitriptamin (melatonin) (Gambar 2.1). Kedua enzim ini banyak terdapat di kelenjar pineal (Sandra, 2011).



**Gambar 2.1** Biosintesis Melatonin (Sandra, 2011)

Kelenjar pineal mamalia memiliki reseptor neuroendokrin. Impuls cahaya dari retina akan disampaikan ke kelenjar pineal melalui nukleus suprachiasmaticus di hipotalamus melalui sistem saraf simpatis dengan norepinefrin sebagai neurotransmitter. Efek pada kelenjar pineal adalah pada pengaturan sintesis dan sekresi melatonin. Sintesis dan sekresi melatonin distimulasi oleh suasana gelap dan diinhibisi oleh suasana terang. Selama ada cahaya, fotoreseptor di retina akan mengalami hiperpolarisasi yang akan menghambat sekresi norepinefrin. Sistem retinohipotalamus-pineal akan dihambat sehingga melatonin disekresi dalam jumlah yang sangat sedikit. Pada saat tidak ada cahaya, fotoreseptor mensekresi norepinefrin yang akan mengaktifasi sistem retino-hipotalamus-pineal. Reseptor alfa dan beta adrenergik bertambah di glandula pinealis. Kontak antara norepinefrin dan reseptornya mengaktifasi enzim arilalkilamin N-asetiltransferase (AA-NAT).

Enzim inilah yang akan menginisiasi sintesis melatonin dan sekresinya. Melatonin selanjutnya akan masuk ke aliran darah melalui difusi pasif. Pada manusia, peningkatan sekresi melatonin segera terjadi pada saat onset gelap dan mencapai puncaknya pada tengah malam (antara jam 2 sampai jam 4), kemudian secara bertahap akan mengalami penurunan. Konsentrasi melatonin serum sangat dipengaruhi oleh usia. Bayi kurang dari tiga bulan mensekresi sedikit melatonin, dan akan meningkat pada bayi yang lebih besar dan mencapai puncaknya pada anak usia 1-3 tahun (325 pg/mL). Pada usia ini mulai terbentuk ritme sirkadian dimana sekresi di siang hari lebih kecil dibanding malam hari. Setelah usia 3 tahun, sekresi melatonin mulai menurun secara bertahap sehingga pada manusia dewasa muda, rata-rata konsentrasi melatonin serum hanya 10-60 pg/mL saja (Gambar 2.2) (Sandra, 2011).



Gambar 2.2 Konsentrasi Melatonin pada Berbagai Usia (Sandra, 2011)

Melatonin menunjukkan aktivitas antikanker dan protektif melalui beberapa mekanisme, seperti penghambatan proliferasi sel kanker, penurunan stres oksidatif, dan peningkatan aktivitas sistem kekebalan tubuh. Stres oksidatif memiliki efek kompleks dan berbeda pada setiap jenis perkembangan kanker. Oksidasi lipid seluler dan protein dapat mempengaruhi beberapa langkah proses karsinogenik melalui perubahan berbagai fungsi pengaturan sel, termasuk transduksi sinyal dan ekspresi gen. ROS terlibat dalam proses karsinogenesis, terutama pada tahap inisiasi dan promosi. Tampaknya kerusakan DNA sebagian besar terkait dengan proses inisiasi. Radikal bebas dan ROS yang dihasilkan oleh karsinogen lingkungan, atau oleh perubahan metabolisme, menyebabkan kerusakan DNA dan ketidakstabilan genetik. Selain itu, kerusakan DNA, peningkatan proliferasi, mutasi, stres oksidatif, vaskularisasi tumor, dan potensi metastasis dapat disebabkan oleh nitrat oksida sintase berlebih dan peningkatan oksida nitrat. Semakin banyak bukti mengimplikasikan tindakan antioksidan / radikal bebas melatonin dalam menghambat perkembangan dan pertumbuhan kanker. Melatonin ini merangsang enzim antioksidan yang menghilangkan ROS sebelum dapat menimbulkan kerusakan dan membantu perbaikan DNA yang rusak. Melatonin sangat baik untuk pencegahan dan pengobatan beberapa kanker, seperti kanker payudara, kanker prostat, kanker lambung, dan kanker kolorektal (Hacışevki, 2018).

## **2.2 Viabilitas Sel**

*Viabilitas* sel adalah suatu indeks yang menunjukkan jumlah sel yang masih hidup setelah terpapar suatu zat. Biasanya, pengujian *viabilitas* sel memberikan pembacaan kehidupan sel melalui pengukuran aktivitas metabolik, ATP, atau proliferasi sel (Cell Signaling Technology, 2020). Trypan Blue merupakan salah satu zat yang direkomendasikan untuk digunakan dalam prosedur penghitungan *viabilitas* sel. Dalam pengujian ini, sel yang *adheren* atau *non-adheren* diinkubasi dengan pengenceran senyawa uji secara berurutan untuk berbagai waktu. Setelah pengujian senyawa, sel disuspensi. Suspensi sel dicampur dengan *trypan blue* kemudian diperiksa secara visual untuk menentukan apakah sel mengambil atau

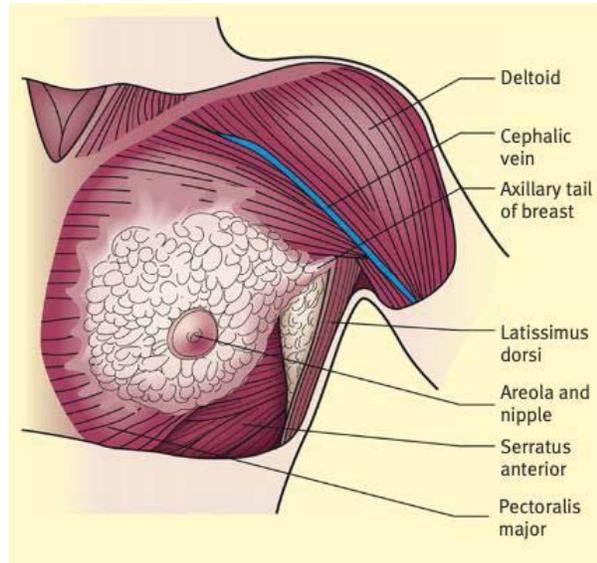
mengeluarkan pewarna. Sel yang hidup akan memiliki sitoplasma yang jelas, sedangkan sel yang mati akan memiliki sitoplasma berwarna biru (Aslantürk, 2017). *Viabilitas* sel dapat dihitung dengan membandingkan jumlah total sel yang masih hidup terhadap jumlah total sel yang hidup dan mati (Merck, 2020).

### 2.3 Sel MCF-7

Sel MCF-7 adalah sel line dari penderita kanker payudara yang diperoleh dari pleural effusion breast adenocarcinoma wanita Kaukasian berumur 69 tahun, dengan golongan darah O, dan Rh positif. Media dasar penumbuh sel MCF-7 adalah media Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM). Untuk memperoleh media kompleks, maka ditambahkan 0,01 mg/ml bovine insulin dan Fetal Bovine Serum (FBS) hingga konsentrasi akhir FBS dalam media menjadi 10%. Sel ditumbuhkan pada suhu 37°C dan dengan kadar CO<sub>2</sub> 5% (ATCC, 2020).

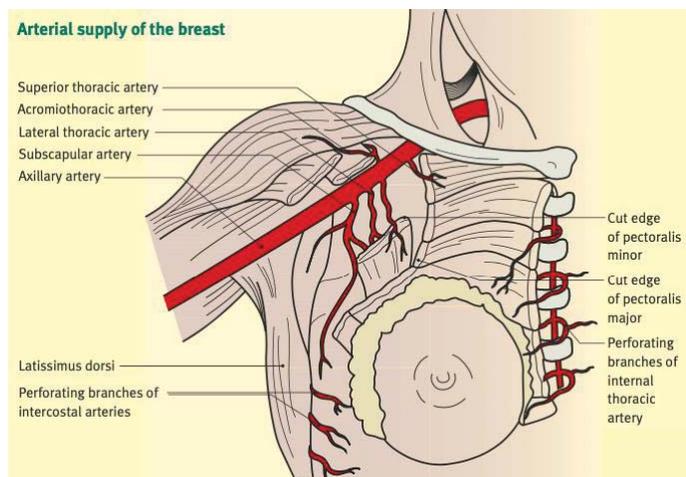
### 2.4 Payudara

Kelenjar *mammae* wanita dewasa memanjang dari tulang rusuk kedua hingga tulang rusuk keenam. Secara medial berbatasan dengan tepi sternum, dan secara lateral mencapai garis mid-aksila. Kelenjar *mammae* terletak pada fascia superficialis dinding dada di atas M. pectoralis major dan difiksasi oleh ligamentum suspensorium cooper. Kira-kira dua pertiga kelenjar *mammae* terletak di atas M. pectoralis major dan sepertiganya di atas M. serratus anterior (Gambar 2.3). Kelenjar *mammae* berbentuk konkaf dengan suatu penonjolan tepat ditengahnya disebut dengan *papilla mammae*. Pada wanita nullipara biasanya terletak di ruang intercostal keempat. *Papilla mammae* tidak memiliki lemak, rambut, ataupun kelenjar. Namun terdiri dari serabut otot polos yang berbentuk sirkuler yang menekan *ductus lactiferus* selama masa laktasi dan membuat *papilla mammae* mempunyai kemampuan untuk erektile. Dasar *papilla mammae* dikelilingi oleh areola yang banyak mengandung kelenjar sebacea (Ellis, 2013).



**Gambar 2.3** Anatomi Kelenjar Mammae (Ellis, 2013)

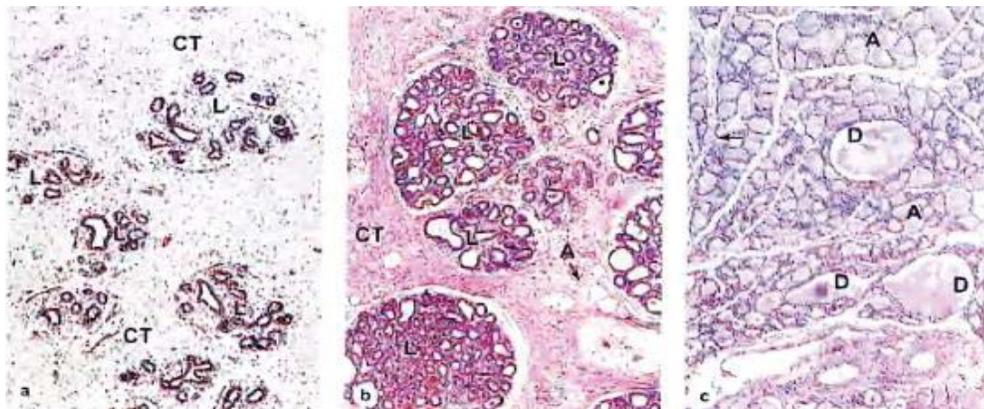
Perdarahan pada kelenjar *mammae* berasal dari aksila, toraks interna (atau mamaria interna) dan arteri interkostal (Gambar 2.4). Pembuluh terbesar berasal dari arteri toraks interna. Pada A. axillaris mempunyai empat cabang yaitu A. thoracica superior, A. thoracoacromio, A. thoracica lateral, dan A. subscapular (Ellis, 2013).



**Gambar 2.4** Perdarahan Kelenjar Mammae (Ellis, 2013)

Kelenjar *mammae* terbentuk secara embriologis sebagai invaginasi ektoderm permukaan sepanjang garis ventral. Setiap kelenjar *mammae* terdiri atas 15-25 lobus yang merupakan suatu kelenjar tersendiri dengan *ductus lactiferi* ekskretorisnya sendiri, yang berfungsi menyekresikan air susu untuk memberi nutrisi neonatus. Setiap lobus, dipisahkan oleh jaringan ikat padat dan jaringan adiposa (Mescher, 2012).

Kulit yang melapisi papilla *mammae* membentuk areola merupakan kulit yang cukup tipis dengan kelenjar sebacea (Gambar 2.5) (Mescher, 2012). Areola memiliki kelenjar khusus disebut dengan kelenjar Montgomery. Areola mengandung lebih banyak melanin sehingga berpigmen gelap (Leeson, 1993).



**Gambar 2.5** (a): Kelenjar payudara wanita dewasa yang tidak hamil, dengan duktus kecil dan terdapat sedikit lobulus (L), terdiri atas jaringan ikat (CT), yang memiliki sejumlah lemak. (b): Selama kehamilan, duktus tumbuh cepat, lobulus menjadi semakin besar, adiposit (A) ikut terlihat, (c): Selama laktasi, lobulus dan lumen sangat membesar, sejumlah besar alveoli (A) kelenjar dan duktus ekskretoris (D) terisi air susu (Mescher, 2012)

## 2.5 Kanker Payudara

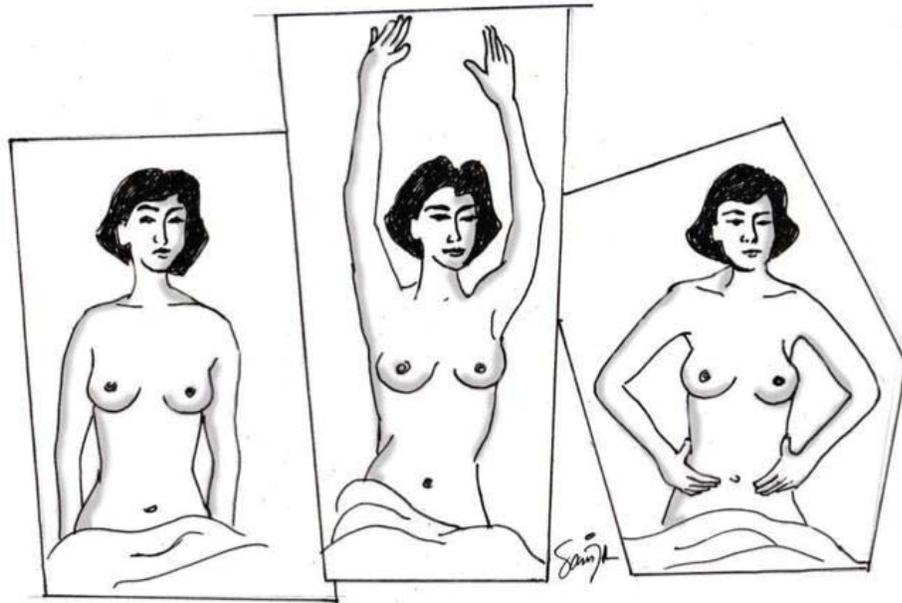
Kanker payudara adalah sel-sel pada payudara yang pertumbuhannya tidak terkendali sehingga menekan sel-sel yang normal (The American Cancer Society, 2019). Kanker payudara merupakan kanker yang terinduksi paparan estrogen. Estrogen dapat menstimulasi proliferasi sel epitel pada payudara (Sandra, 2011). Kanker dapat disebabkan oleh mutasi pada gen yang ada di nukleus sel dalam tubuh.

Dikelompokkan menjadi kanker yang bersifat jinak dan ganas. Jika sel-sel kanker terlokalisasi pada organ tubuh tertentu, disebut sebagai tumor jinak namun ketika sel-sel tumor bermetastasis ke organ lain maka itu menjadi ganas (Majeed et al., 2014). Terdapat dua gen mayor kanker payudara sebagai gen predisposisi, yaitu gen BRCA1 dan BRCA2. Gen BRCA1 ditemukan pada lengan panjang kromosom 17q dan gen BRCA2 ditemukan pada kromosom 13. Baik gen BRCA1 maupun BRCA2 merupakan tumor suppressor gene yang terkait dengan peningkatan risiko kanker ovarium dimana risiko tertinggi terdapat pada gen BRCA1. Kedua gen ini diturunkan secara autosomal dominan dengan risiko 50% karier mampu mewariskan mutasi kepada keturunan berikutnya (Jatoi, 2008). Fungsi gen BRCA1 dan BRCA2 secara spesifik belum semua diketahui secara pasti. Gen BRCA2 hanya diketahui berfungsi dalam proses rekombinasi homolog, sedangkan fungsi spesifik lainnya kurang diketahui secara pasti. Hal ini sangat berbeda dengan gen BRCA1 yang lebih banyak diketahui fungsinya dalam proses karsinogenesis (Robson, 2007).

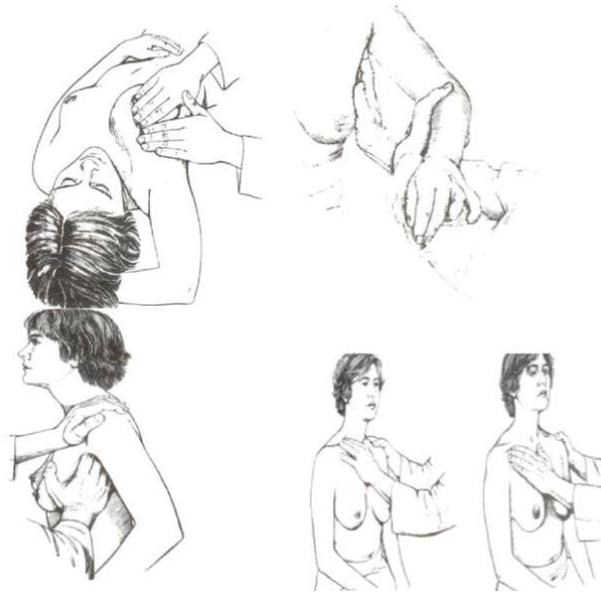
Untuk mengetahui diagnosis kanker payudara dapat dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan penunjang. Pada anamnesis dapat ditemukan beberapa keluhan utama terkait yang biasanya digali dari pasien kanker payudara meliputi, ukuran dan letak benjolan payudara, kecepatan benjolannya tumbuh, apakah disertai dengan sakit, reaksi puting susu, apakah ada nipple discharge atau, kelainan pada kulit misalnya dimpling, peau d' orange, atau ulserasi, apakah ada benjolan pada ketiak atau edema pada lengan atas. Selain itu, beberapa keluhan tambahan yang terkait dengan kemungkinan metastasis dari kanker payudara dapat ditanyakan juga misalnya nyeri pada tulang (untuk mencari kemungkinan metastasis pada vertebrae, femur), rasa sesak nafas dan lain sebagainya yang menurut klinisi terkait dengan penyakitnya (Kemenkes RI, 2018).

Pada pemeriksaan fisik meliputi pemeriksaan status lokalis, regionalis, dan sistemik. Biasanya pemeriksaan fisik dimulai dengan menilai status generalis (tanda vital-pemeriksaan menyeluruh tubuh) untuk mencari kemungkinan adanya metastase dan/atau kelainan medis sekunder. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan untuk menilai status lokalis dan regionalis.

Pemeriksaan ini dilakukan secara sistematis, inspeksi, dan palpasi. Inspeksi dilakukan dengan pasien duduk, pakaian atas dan bra dilepas dan posisi lengan di samping, di atas kepala dan bertolak pinggang (Gambar 2.6). Inspeksi pada kedua payudara, aksila, dan sekitar kalvikula yang bertujuan untuk mengidentifikasi kemungkinan metastasis ke kelenjar getah bening (Gambar 2.7). Palpasi payudara dilakukan pada pasien dalam posisi terlentang (supine), lengan ipsilateral di atas kepala dan punggung dikanjal bantal. Kedua payudara di palpasi secara sistematis, dan menyeluruh baik secara sirkular ataupun radial. Palpasi aksila dilakukan dalam posisi pasien duduk dengan lengan pemeriksa menopang lengan pasien. Palpasi juga dilakukan pada infra dan supraklavikula (Kemenkes RI, 2018).



**Gambar 2.6** Teknik Melakukan Inspeksi Payudara dan Daerah Sekitarnya dengan Lengan Disamping, Diatas Kepala, dan Bertolak Pinggang (Kemenkes RI, 2018)



**Gambar 2.7** Teknik Melakukan Palpasi Parenkim Payudara untuk Identifikasi Tumor Primer dan Palpasi Aksila, Infraklavikula, dan Supraklavikula untuk Identifikasi Pembesaran Getah Bening (Kemenkes RI, 2018)

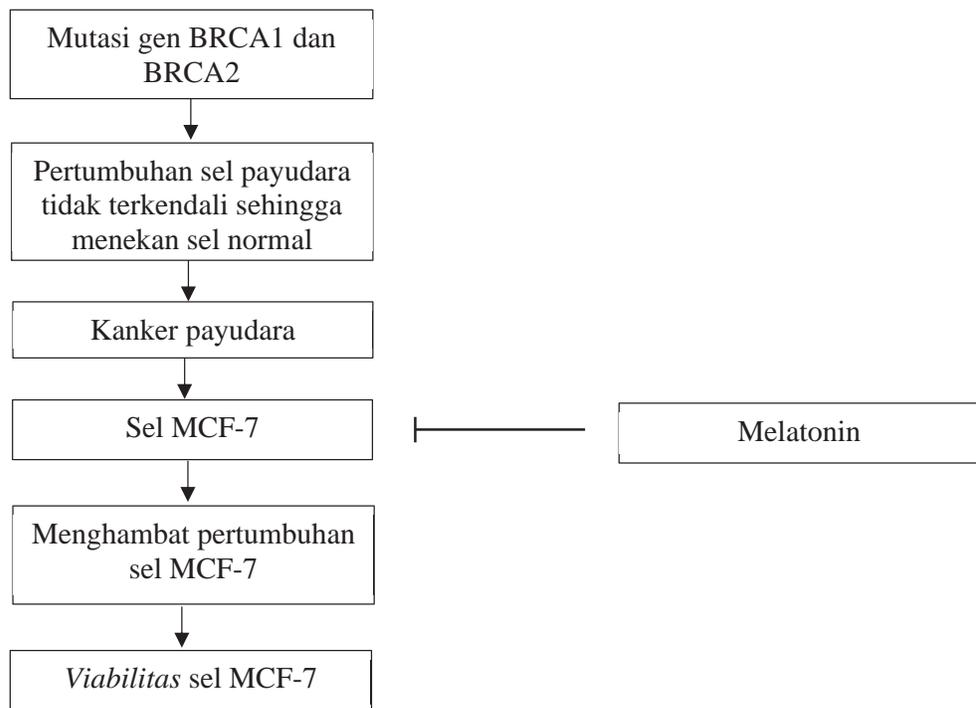
Pemeriksaan penunjang yang dapat dilakukan adalah pemeriksaan radiologik/*imaging* yaitu mamografi, ultrasonografi, dan sitologi. Mamografi memiliki tujuan utama yaitu untuk mengenal secara dini keganasan pada payudara. Berdasarkan penyelidikan, jika mamografi dan ultrasonografi dipakai bersamaan dalam prosedur diagnostik, maka akan diperoleh nilai ketepatan diagnosis sebesar 97%. Apabila kedua teknik tersebut dipergunakan secara tersendiri akan diperoleh nilai ketepatan diagnostik untuk mamografi 94%, sedangkan USG hanya 78% (Rasad, 2018). Mamografi berperan pada payudara yang mempunyai jaringan lemak yang dominan serta jaringan fibroglandular yang relatif lebih sedikit dan biasanya ditemukan pada wanita dewasa diatas usia 40 tahun, yang pada umur tersebut biasanya akan terjadi keganasan payudara yang semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena absorbs sinar X oleh jaringan tumor akan lebih banyak daripada jaringan sekitarnya. Peranan mamografi menjadi berkurang pada payudara yang mempunyai jaringan fibroglandular padat dimana keadaan tersebut sering terdapat pada wanita usia dibawah 30 tahun (Rasad, 2018). Indikasi pemeriksaan mamografi bila terdapat benjolan pada payudara, rasa tidak enak pada payudara,

penderita dengan riwayat risiko tinggi keganasan payudara, dan penyakit paget pada puting susu. Ultrasonografi adalah pemeriksaan yang dapat membedakan lesi padat (solid) atau lesi kistik atau variasi antara keduanya (campuran). Pada pemeriksaan ultrasonografi ini sulit membedakan lesi jinak atau ganas. Pemeriksaan sitologi Fine needle aspiration biopsi (FNAB)/ biopsi jarum halus spesimen yang diperiksa diambil dengan aspirasi jarum halus (no.22). Yang dinilai dari sitologi ini adalah sel, sitoplasma, dan inti. Ketepatan pemeriksaan sitologi ini 89-95% ditangan yang ahli. Biopsi jarum ini dapat pula dilakukan dengan “core needle biopsy“ disini didapat spesimen jaringan yang dapat diperiksa secara histopatologi. Tetapi jarum “Core needle“ ini lebih besar dan dapat menimbulkan trauma lebih besar daripada FNAB misalnya perdarahan. “Triple diagnosis“ yaitu pemeriksaan klinis yang teliti pemeriksaan *mamografi* dan FNAB (*cytology*). Apabila pemeriksaan klinis curiga ganas, pemeriksaan *mamografi* dan *cytology* juga menyatakan keganasan, maka nilai ketiga pemeriksaan ini sama dengan *gold standard*. Jadi apabila *triple* diagnostik positif berarti terapi definitif dapat dilakukan. Apabila salah satu faktor dalam *triple* diagnostik tidak menunjukkan keganasan, diagnosa histopatologi perlu ditegakkan intra operatif dengan potong beku (Frozen section) (Ramli, 2015).

Pencegahan yang dapat dilakukan yaitu pencegahan primer dan sekunder. Pencegahan primer adalah usaha agar tidak terkena kanker payudara. Pencegahan primer berupa mengurangi atau meniadakan faktor-faktor risiko yang diduga sangat erat kaitannya dengan peningkatan insiden kanker payudara. Pencegahan sekunder adalah melakukan skrining kanker payudara. Skrining kanker payudara adalah pemeriksaan atau usaha untuk menemukan abnormalitas yang mengarah pada kanker payudara pada seseorang atau kelompok orang yang tidak mempunyai keluhan. Tujuan dari skrining adalah untuk menurunkan angka morbiditas akibat kanker payudara dan angka kematian . Beberapa tindakan untuk skrining yaitu periksa payudara sendiri (SADARI) dilakukan oleh masing-masing wanita, mulai dari usia 20 tahun. SADARI dilakukan setiap bulan, 7-10 hari setelah hari pertama haid terakhir. Cara melakukan SADARI dimulai dengan memandang kedua payudara didepan cermin dengan posisi lengan terjuntai kebawah dan selanjutnya

tangan berkacak pinggang. Lihat dan bandingkan kedua payudara dalam bentuk, ukuran, dan warna kulitnya. Perhatikan kemungkinan-kemungkinan adanya dimpling, pembengkakan kulit, posisi dan bentuk dari puting susu (apakah masuk kedalam atau bengkak), kulit kemerahan, keriput atau borok, dan bengkak. Tetap didepan cermin, kemudian mengangkat kedua lengan dan melihat kelainan tanda-tanda adanya pengeluaran cairan dari puting susu. Berikutnya dengan posisi berbaring, rabalah kedua payudara, payudara kiri dengan tangan kanan dan sebaliknya, gunakan bagian dalam (volar/telapak) dari jari ke 2-4. Raba seluruh payudara dengan cara melingkar dari luar kedalam atau dapat juga vertikal dari atas kebawah (Kemenkes RI, 2018).

## 2.6 Kerangka Teori



## 2.7 Kerangka Konsep

Penelusuran artikel dengan kata kunci melatonin dan sel MCF-7 dilakukan melalui situs dari website NEJM (<https://www.nejm.org>), NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>), PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>), dan Science Direct (<https://www.sciencedirect.com>). Penelusuran dibatasi pada artikel yang terbit pada 5 tahun terakhir dan dipilih 5 artikel dengan jumlah sitasi terbanyak.

## 2.8 Perumusan Hipotesis

- H0 : Pemberian melatonin tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel MCF-7
- H1 : Pemberian melatonin memiliki aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel MCF-7

## 2.9 Definisi Operasional

**Tabel 2.1** Definisi Operasional

No	Istilah	Pengertian
1	Kanker Payudara	Sel-sel pada payudara yang pertumbuhannya tidak terkendali sehingga menekan sel-sel yang normal
2	Sel MCF-7	Sel kanker payudara yang diperoleh dari pleural effusion breast adenocarcinoma seorang pasien wanita Kaukasian
3	Melatonin	Neurohormon golongan indolamin yang disintesis oleh kelenjar pineal serta berfungsi pada regulasi irama sirkadian