

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 3.1 Hasil Penelitian Terdahulu

Pada penelitian terdahulu dengan judul “*First-Principle Time-Dependent Study of Magnesium-Containing Porphyrin-Like Compounds Potentially Useful for Their Application in Photodynamic Therapy*” menyatakan bahwa adanya ikatan kompleks logam Mg dengan *phthalocyanine*, porfirin, klorin, bakterioklorin, *texaphyrin*, *naptophthalocyanine*, dan ligan *anthracocyanine* memiliki potensi sebagai fotosensitizer. MgPc merupakan kandidat yang diandalkan untuk digunakan sebagai *fotosensitizer* dalam PDT (Lanzo *et al.*, 2008).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Frackowiak (2001) dengan judul “*Yield of intersystem (singlet-triplet) crossing in phthalocyanines evaluated on the basis of a time in resolved photothermal method*” menyatakan bahwa sebagian besar *phthalocyanine* yang tersubstitusi dengan logam akan menghasilkan *intersystem crossing* yang lebih tinggi dan dapat menjadi fotosensitizer yang efisien pada PDT. Hasil penelitian ini menunjukkan nilai *yields of triplet states* ( $\Phi_T$ ) MgPc tinggi yaitu  $0,82 \pm 0,08$ .

Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu adanya penambahan data penelitian. Tujuannya untuk mengetahui potensi senyawa MgPc sebagai antikanker secara PDT dengan melakukan uji toksisitas saat tanpa penyinaran dan uji aktivitas dengan penyinaran terhadap sel kanker payudara T47D.

### 3.2 Landasan Teori

#### 3.2.1 Kanker

Kanker disebabkan oleh adanya pertumbuhan sel-sel jaringan yang tidak normal dalam tubuh manusia. Sel normal akan membelah diri jika ada pergantian sel-sel yang telah mati dan rusak. Namun, pada sel kanker justru akan membelah terus menerus tidak terkendali sehingga akan terjadi penumpukkan sel-sel baru bersifat ganas yang disebut tumor atau kanker. Sel-sel kanker ini dapat menyebar dan

menyerang organ-organ penting lainnya. Kanker tidak hanya menunjukkan satu penyakit saja, kanker adalah kumpulan dari penyakit dengan banyak tanda dan gejala yang berbeda, karena terdapat banyak jaringan dalam tubuh yang melibatkan banyak sekali karsinogen endogen maupun eksogen dan berbagai mekanisme etiologi (Coleman dan Tsongalis, 2017). Secara umum, kanker timbul karena faktor ekstrinsik yaitu paparan terhadap suatu karsinogen secara berkali-kali dan aditif pada dosis tertentu, tetapi pada keadaan tertentu dapat juga timbul dari dosis tunggal karsinogen misalnya asap rokok, debu asbes, dan alkohol. Selain itu, faktor genetik dan faktor psikogenik juga berperan dalam menyebabkan kanker. Faktor keturunan kanker didasarkan pada pengamatan klinis dan laboratoris (terdapatnya kelainan kromosom yang khas untuk kanker tertentu). Hal ini menunjukkan bahwa kanker /tumor pada masa anak-anak belum tentu menjadi kanker dengan bertambahnya usia karena sel genetik yang berpotensi menjadi kanker mengalami diferensiasi dan menghilang. Faktor psikogenik mencakup 2 bagian yaitu faktor kepribadian dan psikososial (Kartawiguna, 2001).

Pertumbuhan kanker dapat dibagi menjadi 3 fase utama, yaitu fase inisiasi, promosi, dan progresi. Fase inisiasi merupakan fase awal dan berlangsung cepat, terlihat nekrosis sel dengan meningkatnya proliferasi sel dan pada akhir fase inisiasi belum terlihat perubahan histologis dan biokimiawi. Fase promosi merupakan lanjutan dari fase inisiasi, sel yang telah mengalami fase inisiasi akan berproliferasi menjadi sel preneoplasma oleh promotor. Fase progresi, berlangsung selama berbulan-bulan, terjadi ekspansi populasi sel dan irreversibel. Sel preneoplasma dalam keadaan metaplasia berubah menjadi displasia sebelum menjadi neoplasma. Hal ini menyebabkan perubahan struktur, metabolik dan kelakuan sel akibat terjadi mutasi sehingga sel-sel menjadi tidak responsif terhadap sistem imun tubuh dan regulasi sel (Kartawiguna, 2001).

Pengobatan kanker yang umum digunakan yaitu:

- a. Pembedahan, umumnya pengobatan dilakukan untuk sel kanker yang belum metastasis dan tidak untuk sel yang sudah metastasis.
- b. Radiasi atau penyinaran, pengobatan kanker menggunakan partikel atau gelombang yang energinya tinggi, seperti sinar gamma, sinar-x, berkas elektron, atau proton untuk menghancurkan atau merusak sel kanker.
- c. Kemoterapi, pengobatan pada sel kanker yang telah metastatis dan tidak terlokalisasi menggunakan obat-obat antikanker.

### 3.2.2 Kanker Payudara

Tumor pada payudara bermula dari sel epitel sehingga sebagian besar kanker payudara dikelompokkan sebagai karsinoma (keganasan tumor epitelial). Berdasarkan asal dan karakter histologinya kanker payudara dikelompokkan menjadi dua kelompok besar yaitu *in situ* karsinoma dan invasif karsinoma. *In situ* karsinoma, lokalisasi sel tumor baik di duktus maupun di lobular tanpa adanya invasi melalui membran basal menuju stroma di sekelilingnya. Invasif karsinoma, membran basal akan rusak keseluruhan atau sebagian dan sel kanker mampu menginvasi jaringan di sekitarnya menjadi metastatik (Hondermarck, 2003).

Tahap-tahap perkembangan kanker payudara menurut Suryaningsih dan Sukaca (2009) antara lain:

1. Stadium 0, sel kanker tidak menyebar keluar dari saluran payudara kelenjar susu disebut dengan *in situ* karsinoma.
2. Stadium I, tumor masih sangat kecil dan tidak menyebar serta terdapat titik pada pembuluh getah bening.
3. Stadium II A, ditandai dengan benjolan kanker berukuran 2 cm sehingga tidak dapat terdeteksi dari luar.
4. Stadium II B, benjolan berukuran kurang lebih 2-5 cm dengan penyebaran sudah sampai ke kelenjar susu dan daerah ketiak.

5. Stadium III A, kanker telah menyebar 87% ke daerah limfa dan ke titik-titik pada pembuluh getah bening ketiak. Diameter tumor berukuran lebih dari 5 cm.
6. Stadium III B, kanker telah menyebar ke seluruh bagian kulit dinding dada, tulang rusuk dan otot dada serta menyebabkan pembengkakan dan luka bernanah pada payudara.
7. Stadium III C, benjolan telah menyebar ke lebih dari 10 titik di saluran pembuluh getah bening dibawah tulang selangka.
8. Stadium IV, kanker telah menyebar dari payudara dan kelenjar getah bening disekitar minyak ke bagian lain seperti paru, tulang, hati, dan otak.

### 3.2.3 Sel T47D

Sel T47D merupakan continuous cell lines yang mempunyai morfologi mirip sel epitel. Sel ini diisolasi dari jaringan tumor ductal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. Sel ini telah digunakan pada banyak penelitian kanker payudara secara *in vitro* karena memiliki beberapa keuntungan yaitu mudah dalam penanganannya, pertumbuhannya cepat atau memiliki kemampuan mereplikasi diri secara tidak terbatas, homogenitas relatif tinggi, dan mudah diganti dengan stok baru yang dalam keadaan beku jika terjadi kontaminasi (Burdall *et al.*, 2003). Morfologi sel T47D dapat dilihat pada Gambar 2.1.

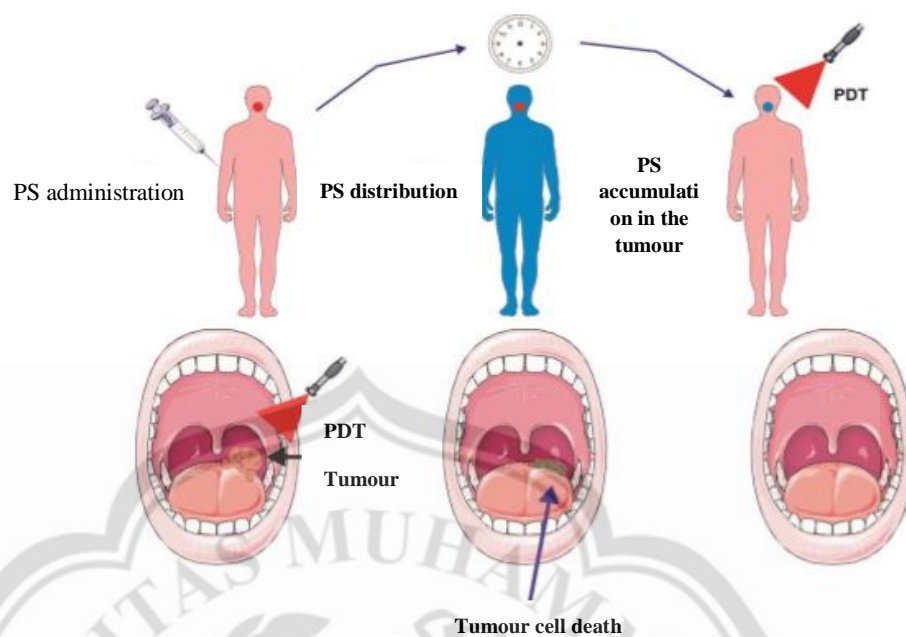


Gambar 2.1. morfologi sel T47D

Sel T47D merupakan sel kanker payudara yang memiliki reseptor estrogen (ER) dan reseptor progesterone (RP) positif (Dogan *et al.*, 2015). Sel T47D juga memiliki kemampuan untuk mengekspresikan protein p53 yang termutasi yang menyebabkan p53 tidak dapat berikatan dengan response element pada DNA. Hal ini mengakibatkan kemampuan p53 untuk regulasi siklus sel menjadi berkurang bahkan hilang (Schafer *et al.*, 2000).

#### 3.2.4 Terapi Fotodinamik (*Photodynamic Therapy/PDT*)

PDT merupakan terapi antitumor yang baru dan menjanjikan pada PDT menggunakan 3 komponen utama yaitu fotosensitizer, cahaya, dan oksigen. Pada dasarnya, Prinsip PDT yaitu menggunakan agen fotosensitizer (Ps) yang diberikan secara topikal atau sistemik. Ps akan terdistribusi ke seluruh sel baik sel normal maupun sel tumor. Setelah beberapa waktu, Ps akan terakumulasi secara selektif hanya pada jaringan tumor dan akan tereliminasi dari jaringan normal. Adanya radiasi cahaya dengan panjang gelombang dan intensitas tepat akan mengaktifkan Ps untuk menyerap cahaya dan dihadapan oksigen akan memicu terjadinya reaksi fotokimia yang dapat menghasilkan oksigen siglet ( $^1\text{O}_2$ ) yang dapat merusak atau menghancurkan sel kanker. Kerusakan pada makromolekul seluler yang tidak dapat diperbaiki akan menyebabkan kematian sel tumor (Agostinis *et al.*, 2011). Proses terapi secara PDT dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Prinsip PDT dalam membunuh sel tumor (Agostinis *et al.*, 2011).

Terdapat 2 aspek penting pada PDT yaitu proses penyerapan cahaya dan transfer energi. Cahaya yang digunakan harus dipastikan mampu terdistribusi baik pada sel target (tumor). Sumber cahaya untuk PDT harus menunjukkan karakteristik spektral yang cocok dengan rentang panjang gelombang serapan maksimum dari Ps untuk menghasilkan oksigen singlet dan ROS yang efektif sehingga memiliki efek sitotoksik (Robertson *et al.*, 2009).

Sumber cahaya pada PDT antara lain: (Bonnett, 2000)

1. Bola lampu pijar
2. Lampu busur (Arc lamp)
3. LED (Light-Emitting Diodes)
4. Laser sources
5. Lampu yang difilter

LED dan Near-IR merupakan sumber cahaya yang digunakan untuk PDT. LED untuk PDT lebih banyak digunakan karena memiliki beberapa keuntungan yaitu aman, murah, tidak merusak termal, tersedia dan dapat diperoleh dalam berbagai panjang gelombang emisi (Jamali *et al.*, 2018). LED berkisar pada panjang gelombang 400-700

nm dan panjang gelombang Near-IR (700-2500 nm) (Karlinsari *et al.*, 2012).

Menurut Maiya 2000, panjang gelombang yang digunakan untuk menyerap Ps pada PDT yaitu 600-850 nm. Jika pada panjang gelombang kurang dari 600 nm maka akan menyerap hemoglobin yaitu pada panjang gelombang di dekat 418, 542, dan 577 nm dan melanin pada panjang gelombang 300-500 nm, sedangkan jika pada panjang gelombang lebih dari 850 yaitu 850-900 nm foton mungkin tidak memiliki energi yang cukup untuk melakukan reaksi fotokimia dan jika lebih dari 1000 nm maka penyerapan cahaya oleh molekul air menjadi besar.

Senyawa MgPc akan lebih optimal jika menggunakan sumber cahaya LED daripada Near-IR. Hal ini disebabkan karena MgPc mempunyai panjang gelombang 670 nm yang masuk pada rentang LED yaitu 400-700 nm. Sehingga memungkinkan cahaya akan terserap oleh Ps secara optimal.

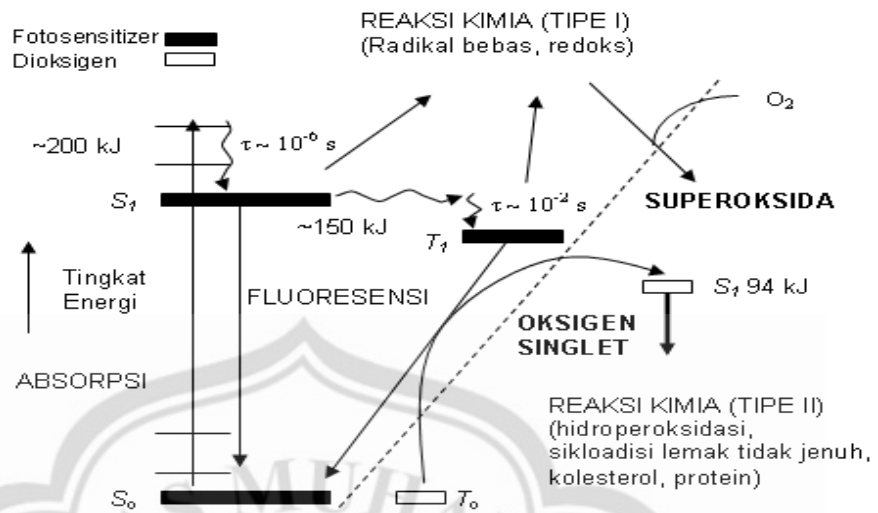
Keuntungan dari PDT dibandingkan dengan pembedahan, radiasi, dan kemoterapi atau kombinasinya adalah berkurangnya morbiditas jangka panjang dan fakta bahwa PDT tidak membahayakan untuk pengobatan kanker di masa depan untuk pasien dengan penyakit residual atau berulang. Selain itu, keuntungan lainnya dari PDT yaitu memiliki spesifitas dan selektivitas yang baik. Hal ini diperoleh dari adanya fakta bahwa fotosensitizer berkonsentrasi khusus dalam jaringan dengan cahaya secara langsung terfokus pada lesi akan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) sehingga dapat menghancurkan sel tumor yang terakumulasi Ps. Terapi PDT juga memiliki toksisitas terhadap jaringan normal tetapi dapat diminimalisir karena adanya penyinaran yang bersifat lokal hanya pada sel kanker. Pengobatan kanker secara PDT dapat dilakukan sebelum atau sesudah kemoterapi, radioterapi, atau pembedahan tanpa mengurangi modalitas terapeutik ini. Prosedur PDT banyak dilakukan secara rawat jalan sehingga tidak hanya mampu mengurangi biaya,

tetapi juga memberikan perawatan yang ramah pasien (Maiya, 2000; Agostini *et al.*, 2011; Robertson *et al.*, 2009).

### 3.2.5 Mekanisme Terapi Fotodinamik

Pada PDT, *fotosensitizer* (Ps) akan mengalami mekanisme fotofisika dan fotokimia untuk menghasilkan oksigen singlet. Sebagian besar Ps yang berada di *ground state* dalam keadaan singlet (memiliki 2 elektron dengan arah putaran yang berlawanan). Penyerapan cahaya menyebabkan salah satu elektron berpindah ke orbital energi yang lebih tinggi, dan keadaan ini berlangsung pendek (*nanosecond*). Ps yang tereksitasi menjadi sangat tidak stabil kemudian akan melepaskan energi berlebih sebagai panas atau fluoresensi. Ps yang tereksitasi juga dapat mengalami proses *intersystem crossing* dengan putaran terbalik dari satu elektron untuk membentuk keadaan triplet yang berumur panjang (*microsecond*) dan memiliki elektron berputar dalam konformasi paralel. Ps dalam keadaan triplet akan meluruh ke *ground state* tanpa radiasi atau mentransfer energinya ke oksigen molekuler. Sehingga Ps akan bergerak secara spontan dari keadaan triplet menjadi singlet menghasilkan oksigen singlet (Agostini *et al.*, 2011). Mekanisme pembentukan oksigen singlet dapat dilihat pada Gambar 2.3.

Keadaan triplet pada Ps mengalami 2 jenis reaksi yaitu Tipe I dan Tipe II. Pada tipe I, Ps dapat bereaksi langsung dengan substrat, seperti membrane sel atau molekul, dan mentransfer proton atau elektron untuk membentuk anion atau kation radikal yang dapat bereaksi dengan oksigen menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS). Pada tipe II, triplet Ps pada keadaan *ground state* mentransfer energi secara langsung ke oksigen molekuler untuk membentuk oksigen singlet ( $^1\text{O}_2$ ) keadaan eksitasi. Reaksi tipe I dan II dapat terjadi secara bersamaan dan perbedaan proses reaksi tergantung pada jenis Ps yang digunakan serta konsentrasi substrat dan oksigen (Robertson *et al.*, 2009).



Gambar 2.3. Mekanisme fotofisika dan fotokimia pada PDT (Bonnett, 1995).

Mekanisme keseluruhan melibatkan perubahan molekuler, subseluler dan vascular yang dapat menyebabkan sel tumor mengalami apoptosis (kematian sel secara terprogram) dan nekrosis (kematian sel tidak terprogram) (Allison dan Moghissi, 2013).

### 3.2.6 Fotosensitizer

Fotosensitizer (Ps) adalah senyawa yang mampu menyerap cahaya dengan panjang gelombang tertentu dan mengubahnya menjadi energi yang bermanfaat (Maiya, 2000). Sebagian besar Ps dalam terapi kanker didasarkan pada struktur tetrapirrol, mirip dengan protoporfirin yang terkandung dalam hemoglobin. Porfirin, klorin, bakterioklorin, porfirin yang diperluas, dan turunan *phthalocyanine* (Pc) merupakan turunan tetrapirrol siklik dengan keseragaman serupa dengan porfirin yang muncul secara alami sehingga mereka memiliki sedikit atau tidak ada toksisitas jika tidak ada cahaya (Josefsen dan Boyle, 2008). Struktur Ps harus memungkinkan untuk pembuatan reaksi fotokimia (PDR) yang spesifik. Turunan klorofil dari tanaman dan bakteri adalah agen Ps yang sangat baik. Begitu juga dengan zat pewarna dan porforin (Allison dan Moghissi, 2013).

Fotosensitizer terdiri dari beberapa generasi. Generasi pertama yaitu photofrin mempunyai kelemahan yaitu terjadi sensitivitas pada kulit dan penyerapan lemah pada 630 nm. Generasi kedua, seperti *phthalocyanine* memiliki pita serapan dua kali lebih besar daripada pita Q tertinggi *haematoporphyrine*. Generasi ketiga saat ini menunjukkan harapan (*in vitro*) terhadap sel-sel tumor kolorektal (Josefsen dan Boyle, 2008).

Menurut penelitian Maiya (2000), adapun kriteria minimum fotosensitizer untuk PDT antara lain:

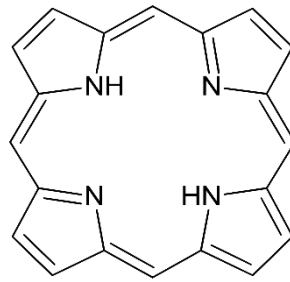
- a. Memiliki absorbansi yang kuat pada panjang gelombang yang lebih panjang (600-850 nm) dimana penetrasi jaringan cahaya maksimal dan menghasilkan oksigen singlet ( $^1\text{O}_2$ ).
- b. Memiliki reaktivitas fotokimia yang sangat baik dengan oksigen triplet tinggi ( $\Phi_T \geq 0.5$ ); hasil kuantum oksigen singlet tinggi ( $\Phi_\Delta \geq 0.5$ ); masa hidup triplet yang relatif lama ( $\tau_T$ , *microsecond range*); dan energi keadaan triplet tinggi ( $\geq 94 \text{KJmol}^{-1}$ ).
- c. Memiliki toksisitas minimal pada keadaan gelap dan hanya bersifat sitotoksik dengan adanya cahaya.
- d. Dapat bertahan pada jaringan target.
- e. Dapat dikeluarkan dengan cepat dari tubuh, sehingga toksisitas sistemiknya rendah.
- f. Murni secara kimia dan komposisi spesifik diketahui.

### 3.2.7 *Phthalocyanine (Pc)* dan *Magnesium Phthalocyanine (MgPc)*

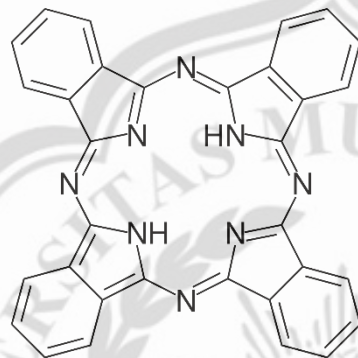
*Phthalocyanine (Pc)* adalah senyawa pewarna dan merupakan fotosensitizer generasi kedua. Pc terikat dengan struktur porfirin dan mempunyai penyerapan panjang gelombang dua kali lebih kuat dibandingkan dengan porfirin (670-700 nm). Produksi oksigen singlet pada Pc menghasilkan hasil *quantum yield* 0,49. Usaha meningkatkan biokompatibilitas dan selektifitas dari Pc adalah dengan mengkomplekskannya dengan serum sapi albumin (BSA / *Bovine Serum Albumine*) yaitu pembawa protein umum untuk obat

antikanker. Penelitian yang dilakukan pada sel melanoma B16 dengan konsentrasi *fotosensitizer* (Ps) 0,1 pM menunjukkan tidak teramatinya toksisitas MgPc. Pembunuhan total sel melanoma B16 diperoleh pada pengobatan secara PDT dengan menggunakan lampu merah pada panjang gelombang lebih besar dari 610 nm pada  $60 \text{ J cm}^{-2}$  (Swavey dan Tr, 2013).

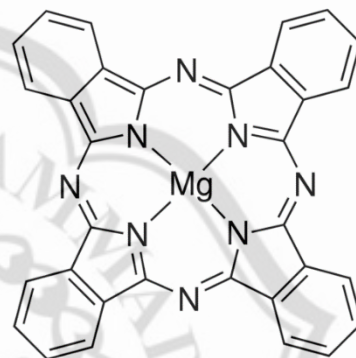
*Phthalocyanine* dapat tersubstitusi dengan ion logam yang disebut *metallo-phthalocyanine* (M-Pc). Adanya koordinasi ion logam transisi dapat mempengaruhi sifat fotofisika Pc dengan memberikan masa triplet pendek (rentang *nanosecond*) dan hasil kuantum triplet tinggi. M-Pc memiliki kemampuan transfer elektron yang tinggi karena sistem cincin elektron yang terkonjugasi dalam struktur molekulnya. Semakin terkonjugasi ikatan strukturnya maka akan semakin rendah energinya (Abrahamse dan Hamblin, 2016). Pada penelitian yang dilakukan oleh Frackowiak (2001), *Magnesium Phthalocyanine* (MgPc) memiliki hasil kuantum kuantum triplet tinggi ( $\Phi_T$ ) tinggi yaitu  $0,82 \pm 0,08$ . MgPc adalah zat warna hijau kebiruan yang tersedia secara komersial. MgPc merupakan turunan *phthalocyanine* yang memiliki BM sebesar 536,8 g/mol dengan rumus kimia  $\text{C}_{32}\text{H}_{16}\text{MgN}_8$  dan nilai log P sebesar 3,81. Selain itu, MgPc juga memiliki Q-band pada panjang gelombang 670 nm sehingga dapat berpenetrasi ke dalam sel kanker dengan jaringan yang lebih dalam. Hal ini menunjukkan bahwa MgPc dipilih sebagai *fotosensitizer* yang efisien untuk pengobatan kanker secara PDT (Frackowiak *et al.*, 2001). Struktur senyawa porphyrin, phthalocyanine, dan MgPc dapat dilihat pada Gambar 2.4.



a. *Porphyrin*



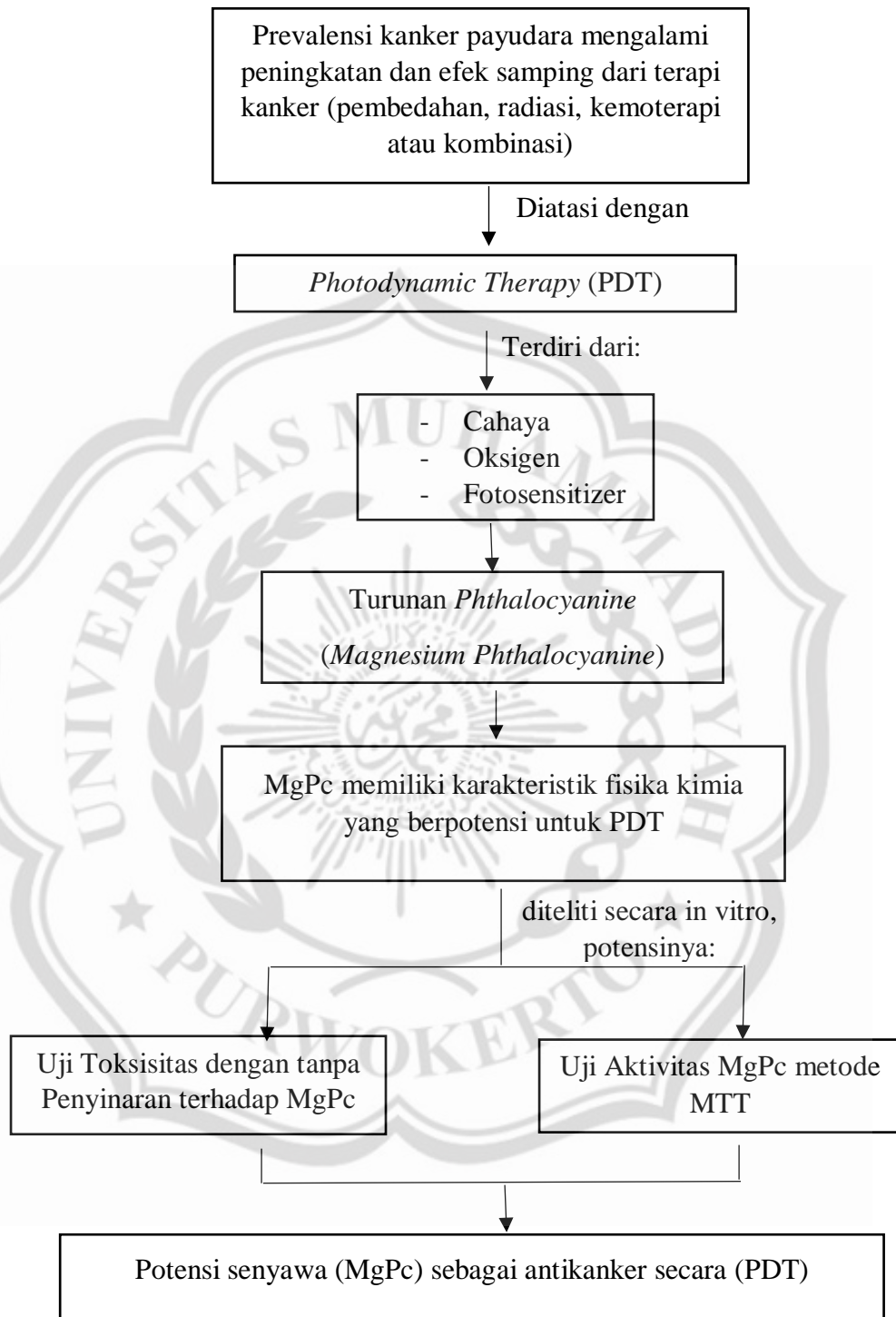
a. *Phthalocyanine*



c. *Magnesium Phthalocyanine*

Gambar 2.4. Struktur *Porphyrin* (a), *Phthalocyanine* (b), dan *Magnesium Phthalocyanine* (c) (Merck, 2019).

### 3.3 Kerangka Konsep dan Penelitian



### 3.4 Hipotesis

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Frackowiak *et al.* (2001), MgPc memiliki nilai *yields of triplet states* ( $\Phi_T$ ) tinggi yaitu  $0,82 \pm 0,08$ . Hal ini menunjukkan bahwa MgPc dapat bertindak sebagai fotosensitizer yang efisien untuk PDT. Oleh karena itu, dalam penelitian ini dapat ditarik hipotesis bahwa MgPc memiliki aktivitas antikanker secara PDT yang diujikan pada sel kanker payudara T47D.

