

# Pengaruh Vitamin D terhadap Indeks Apoptosis pada Penderita Kanker Payudara

Melya Susanti<sup>1</sup>, Sry Suryani Widjaja<sup>1</sup>, Denny Rifsal Siregar<sup>2</sup>

## Abstrak

Kanker payudara merupakan penyakit yang paling sering pada pada wanita dan menjadi penyebab kematian terbanyak akibat kanker. Penyebab kanker payudara sangat multifaktorial salah satu yang masih menjadi kontroversi adalah karena defisiensi vitamin D. Peran vitamin D dalam tubuh sangat luas selain menjaga homeostasis kalsium dan fosfat, vitamin D juga berperan sebagai anti kanker melalui mekanisme antara lain, menginduksi apoptosis. Peran vitamin D dalam menginduksi apoptosis pada sel kanker menarik perhatian, karena nilai apoptosis pada sel kanker dapat menjadi indikator untuk memprediksi respon sel kanker terhadap terapi. Tingkat apoptosis dinilai dengan indeks apoptosis. Tujuan penelitian ini adalah melihat pengaruh vitamin D terhadap indeks apoptosis pada kanker payudara. Sampel penelitian ini adalah penderita kanker payudara yang baru didiagnosis di Polibedah Onkologi RSUP HAM Medan. Pemeriksaan kadar vitamin D menggunakan metode ELISA dan Indeks apoptosis diperiksa dengan pewarnaan HE menggunakan mikroskop cahaya. Rerata indeks apoptosis pada penderita kanker payudara dengan kadar vitamin D yang sufisiensi lebih tinggi daripada rerata indeks apoptosis pada kadar vitamin D yang insufisiensi dan defisiensi. Simpulan hasil penelitian ini ialah terdapat perbedaan indeks apoptosis yang bermakna antara penderita kanker payudara dengan kadar vitamin yang sufisiensi dan dengan kadar vitamin D yang defisiensi. Rerata apoptosis indeks lebih tinggi pada kadar vitamin D yang sufisiensi.

**Kata kunci:** kanker payudara, Kadar vitamin D, Indeks apoptosis

## Abstract

*Breast cancer is the most common type of cancer found in women and the most caused of death due to cancers. The cause of breast cancer was multifactorial, and still become controversial is vitamin D deficiency. So many roles of vitamin D for body, not only preserves homeostasis for calcium and phosphate, but also serves an anti cancer by the mechanism such as inducing an apoptotic. The role of Vitamin D in apoptotic on cancer cells to reduces and attracts an attention, because the value of apoptotic on cancer cells will be an indicators to predicted response for cancer cells therapy. The level of apoptotic be measured by apoptotic index. The objective of this study was to investigated the influence of vitamin D on apoptotic index in breast cancer. The sample of study was sufferers breast cancer that have new diagnosed in poly surgical in RSUP HAM Medan. Examination of Vitamin D levels used by ELISHA method and apoptotic index verify with HE staining that exerted by microscope light. The average of apoptotic index in breast cancer patients with higher vitamin D levels is higher than the average of apoptotic index in vitamin D with deficiency and insufficiency. The conclusion is the significant different between apoptotic index with vitamin D deficiency and vitamin D insufficiency in breast cancer.*

**Keywords:** breast cancer, vitamin D level, apoptotic indeks

**Afiliasi penulis:** Prodi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran USU (Universitas Sumatera Utara Medan) 2. Bagian Bedah Onkologi RSUP Haji Adam Malik Medan

**Korespondensi:** Melya Susanti, Email: melyaasmi@gmail.com  
Telp: 085265750818

## PENDAHULUAN

Kanker payudara sebagai kanker terbanyak pada perempuan di dunia dan penyebab kematian terbanyak pada perempuan setelah kanker paru.<sup>1</sup> Di Amerika Serikat pada tahun 2016, kasus baru penyakit kanker payudara menempati persentase pertama (29%) dari 10 jenis kanker yang ada.<sup>2</sup> Jumlah keseluruhan kanker payudara di Indonesia pada tahun 2013 adalah 61.682 kasus, nomor dua terbanyak setelah kanker serviks. Prevalensi paling tinggi terdapat pada provinsi DI Yogyakarta 0,24% dan selama tahun 2010-2013 kanker payudara termasuk kedalam tiga penyakit terbanyak di RS kanker Dharmais.<sup>3</sup>

Angka mortalitas karena kanker payudara meningkat setiap tahunnya dari 508.000 kasus pada tahun 2011 menjadi 522.000 kasus pada tahun 2012 dan merupakan penyebab kematian nomor empat didunia.<sup>2</sup> Di Indonesia pada tahun 2015 mortalitas karena kanker payudara sekitar 18% dari semua kematian karena kanker. Terdapat 27 kasus kematian dalam 100.000 kasus kanker payudara.<sup>4</sup>

Faktor resiko kanker payudara sangat multifaktorial dan saling berkaitan satu dengan yang lainnya. Faktor diet dan vitamin masih menjadi perdebatan sebagai faktor resiko kanker payudara.<sup>5</sup>

Vitamin D mempunyai peran yang sangat luas dalam tubuh, tidak hanya mengatur homeostasis kalsium dan fosfat untuk kesehatan tulang dan gigi, vitamin D juga memainkan peran penting dalam proliferasi dan diferensiasi sel, sistem imunitas, sistem syaraf, melindungi fungsi syaraf, mengurangi stress oksidatif, sebagai antiinflamasi, antimikroba dan anti kanker.<sup>6,7</sup>

Peran vitamin D sebagai anti-kanker melalui beberapa mekanisme antara lain, berperan sebagai antiproliferasi, menginduksi apoptosis, menghambat angiogenesis, menurunkan inflamasi, meningkatkan diferensiasi, menurunkan invasi dan metastasis.<sup>8,9</sup>

Mekanisme kerja vitamin D dalam menginduksi apoptosis pada sel kanker menarik perhatian, karena nilai apoptosis pada sel kanker dapat menjadi indikator untuk memprediksi respon sel kanker terhadap terapi.<sup>10</sup> Tingkat apoptosis dinilai dengan indeks apoptosis.<sup>11</sup>

Vitamin D mampu menginduksi apoptosis sel kanker. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa efek apoptosis dari vitamin D melibatkan protein *Bcl-2 family*, dengan meningkatkan protein pro-apoptosis dan menekan protein anti-apoptosis.<sup>12</sup>

## METODE

Penelitian ini adalah *cross sectional study* observasi analitik yang bertujuan mengetahui pengaruh kadar vitamin D terhadap indeks apoptosis pada penderita kanker payudara. Penelitian telah dilakukan di Poliklinik Bedah Onkologi RSUP Haji Adam Malik Medan dan laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.

Sampel penelitian ini adalah 53 pasien kanker payudara yang baru didiagnosis di Poliklinik Bedah Onkologi RSUP Haji Adam Malik Medan yang memenuhi kriteria inklusi. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *consecutive sampling*. Subjek menandatangani *inform consent* setelah dijelaskan tujuan, prosedur dan keuntungan dari penelitian

Kadar vitamin D diperiksa dengan metode ELISA menggunakan kit (25(OH)D) ELISA (DBC Canada inc). Kit elisa ini terdiri dari *Anty-25(OH)D Antibody coated Break-Apart well microplate*, konsentrat konyugat 25(OH)D-biotin, konsentrat konyugat streptavidin-HRP, kalibrator 25(OH)D, kontrol, buffer inkubasi, buffer assay, konsentrat cairan pencuci, substrat TBM, larutan *stopping*. Prosedur kerja sesuai dengan petunjuk yang tersedia pada kit. Hasil yang didapatkan dibagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok defisiensi dengan kadar vitamin D < 20ng/ml, insufisiensi 21-29ng/ml, sufisiensi  $\geq 30$ ng/ml.<sup>13</sup>

Indeks apoptosis diperiksa dengan pewarnaan HE menggunakan mikroskop cahaya. Cara menilai indeks apoptosis dengan menghitung jumlah sel yang apoptosis dalam 100 sel tumor dengan pembesaran 40x.<sup>11</sup> Sel yang apoptosis ditandai dengan terjadinya (1) pengkerutan sel dimana sel berukuran lebih kecil, sitoplasmanya berwarna eosinofilik (2) Kondensasi kromatin (piknotik) Ini adalah gambaran apoptotik yang paling khas. gambaran inti kromatin yang terkondensasi berwarna basofilik, kadang gambaran inti kromatin terlihat pecah membentuk dua fragmen

atau lebih (karyorhexis) (3) *Blebbing* membran plasma, memuncak dengan pembentukan vesikel kecil utuh (umumnya dikenal sebagai badan apoptosis).<sup>14</sup>

Analisis data secara komputerisasi dengan uji normalitas *Kolmogorov-smirnov*. Perbedaan rerata antara antara kelompok dianalisis dengan uji *One way Anova*, diikuti dengan uji *pos hoc Tamhane's*. Hasil dengan nilai  $p < 0,05$  dinyatakan bermakna secara statistik.

## HASIL

**Tabel 1.** Kadar vitamin D

Kadar vitamin D	f	%
<20ng/ml ( Defisiensi )	10	18,86
21-29ng/ml ( Insufisiensi)	19	35,84
>30ng/ml ( Sufisiensi)	24	45,28

Tabel 1 menunjukkan distribusi frekuensi kadar vitamin pada penderita kanker payudara, pada penelitian ini paling banyak penderita kanker payudara mempunyai kadar vitamin D sufisiensi 45,28%, paling sedikit penderita kanker payudara mempunyai kadar vitamin D defisiensi 18,86%.

Pada Tabel 2 terlihat perbedaan rerata indeks apoptosis pada masing-masing kelompok vitamin D. Rerata indeks apoptosis paling tinggi pada kelompok sufisiensi dan paling rendah pada kelompok defisiensi. Didapatkan nilai  $p=0,001$  ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada rerata indeks apoptosis pada kelompok vitamin D.

**Tabel 2.** Rerata indeks apoptosis pada kelompok vitamin D

Kadar vitamin D	Rerata Indeks apoptosis	p*
Defisiensi	4,70±1,70	
Insufisiensi	5,36±2,31	0,001
Sufisiensi	10,01±4,73	

\*one way Anova

**Tabel 3.** Analisis perbandingan Indeks apoptosis antar kelompok vitamin D

Kelompok	Perbedaan rerata	p*
Sufisiensi vs defisiensi	5,30 ( 2,51-8,09)	0,001
Sufisiensi vs insufisiensi	4,63 (1,86-7,39)	0,001
Insufisiensi vs defisiensi	0,66 (1,27-2,61)	0,768

\*pos hoc tamhane's

Tabel 3 menunjukkan perbedaan rerata indeks apoptosis antar kelompok vitamin D, terlihat perbedaan yang bermakna dari rerata indeks apoptosis pada kelompok sufisiensi dengan defisiensi dan kelompok sufisiensi dengan kelompok insufisiensi.

## PEMBAHASAN

Defisiensi vitamin D terjadi hampir diseluruh dunia, Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar vitamin D adalah  $28,18 \pm$  ng/ml. Paling banyak didapatkan pada kelompok sufisiensi yaitu 45,28%, kemudian kelompok insufisiensi 35,84% dan paling sedikit adalah kelompok defisiensi adalah 18,86%. Pada penelitian *Imtiaz et al* di Pakistan didapatkan paling banyak kelompok defisiensi 95,6% dan insufisiensi 4,4% dan tidak ada satupun ditemukan subjek dengan kadar vitamin D sufisiensi.<sup>15</sup>

Pada penelitian yang dilakukan di Amerika yang membandingkan kadar vitamin D pada wanita African-American dengan Hispanic. Didapatkan kadar vitamin D pada orang Africa-Amerika lebih rendah dari rata-rata kadar vitamin D orang Hispanic baik pada kontrol sehat (  $18,5 \pm 8,6$  dan  $23,0 \pm 7,6$ ) maupun penderita kanker payudara ( $15,2 \pm 7,3$  dan  $21,2 \pm 8,8$ ).<sup>16</sup> Penelitian kohort yang dilakukan oleh *Hatse et al* pada penderita kanker payudara yang baru didiagnosa pada 1800 subjek penelitian juga mendapatkan kelompok sufisiensi yang paling banyak yaitu 35,9%.<sup>17</sup>

Vitamin D didapat dari makanan dan suplemen tapi cahaya matahari merupakan sumber penting untuk pembentukan endogen vitamin D3. Paparan

cahaya UVB pada kulit akan menginisiasi perubahan *7-dehydrocholesterol* menjadi vitamin D3. Kemudian vitamin D3 akan dirubah oleh enzim *25-Hydroxylase* menjadi 25(OH)D. Sintesis vitamin D3 yang diinduksi cahaya matahari dipengaruhi oleh musim, waktu paparan dengan cahaya matahari, letak astronomis, pigmentasi kulit, penggunaan sunscreen, umur, cahaya matahari yang melewati kaca dan plastik.<sup>18</sup> Indonesia adalah negara tropis yang terletak pada 6°LU dan 11°LS yang memiliki cahaya matahari sepanjang tahun, dengan konsumsi ikan sampai 100,51% (Bappeda SUMUT).<sup>19</sup>

Apoptosis adalah proses kematian sel yang terprogram, diatur secara genetik, bersifat aktif, ditandai dengan adanya kondensasi kromatin, fragmentasi sel dan fagositosis sel tersebut oleh sel tetangganya. Apoptosis mengatur homeostasis jumlah sel dalam jaringan tertentu melalui eliminasi sel yang rusak dan proliferasi sel.<sup>20,21</sup> Deregulasi pada apoptosis dapat mengakibatkan keadaan patologis, termasuk proliferasi sel yang tidak terkontrol seperti yang dijumpai pada kanker.<sup>20</sup>

Pada penelitian ini didapatkan perbedaan rerata indek apoptosis pada masing-masing kelompok vitamin D dengan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ) dengan rerata indeks apoptosis paling tinggi pada kelompok sufisiensi dan rerata paling rendah pada kelompok defisiensi. Uji pos hoc tamhane's didapatkan perbedaan yang bermakna dari rerata indek apoptosis pada kelompok sufisiensi dengan defisiensi dengan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ) dan pada kelompok sufisiensi dengan insufisiensi dengan nilai  $p=0,001$  ( $p<0,05$ ).

Vitamin D dapat mempengaruhi pengaturan gen dan protein yang dapat memicu terjadinya apoptosis. Peran vitamin D pada apoptosis sel terdapat pada jalur yang diatur oleh protein keluarga Bcl2, karena vitamin D menyebabkan *up-regulate* protein BAK dan *down-regulate* protein Bcl2 terutama pada sel target apoptosis.<sup>22</sup> Pada sel protein Bcl2 berfungsi sebagai anti apoptotik, protein Bcl2 dapat mempertahankan permeabilitas membran mitokondria menghambat pelepasan sitokrom c dari mitokondria.<sup>23</sup> Penelitian terdahulu didapatkan bahwa pemberian vitamin D atau analognya pada cell lines adeno-

karsinoma kolorectal dapat menginduksi apoptosis dengan meningkatkan jumlah protein proapoptosis Bak.<sup>12</sup>

Efek apoptosis vitamin D tidak melibatkan reseptor kematian, dan tumor supresor gen p53, berpotensi dijadikan terapi karena beberapa tumor sudah resistensi terhadap agent penginduksi apoptosis karena mutasi pada tumor supresor gen, p53 ataupun pada reseptor kematian.<sup>23</sup>

## SIMPULAN

Rerata indek apoptosis lebih tinggi pada penderita kanker payudara dengan kadar vitamin D sufisiensi.

## ETIK PENELITIAN

Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik fakultas kedokteran USU dengan nomor surat NO:548/TGL/KEPK FK USU-RSUP HAM/2017.

## PENJELASAN PENELITIAN

Data kadar vitamin D adalah data bersama dengan peneliti lainya ( Ira astuti hasibuan, Zakirullah Syafei, Ika waraztuty, Astrid siska pratiwi)

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan bimbingan, bantuan, dan motivasi dalam pelaksanaan penelitian ini serta semua pihak lainnya yang telah memberikan kontribusi dalam pelaksanaan penelitian ini sehingga penelitian ini bisa diselesaikan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Lubis RA, Efrida, Elvira D. Perbedaan jumlah leukosit pada pasien kanker payudara pasca bedah sebelum dan Sesudah radioterapi. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2017;6(2):276-82.
2. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistic, 2016. *Ca Cancer J Clin*. 2016;66(1):7-30.
3. Komite Penanggulangan Kanker Nasional Kementerian Kesehatan RI. Panduan penatalaksanaan kanker payudara (diunduh April 2018). Tersedia dari: <http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKPayudara.pdf>

4. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. 2015 (diunduh Maret 2018). Tersedia dari: <http://www.depkes.go.id/folder/view/01/structure-publikasi-pusdatin-info-datin.html>
5. American Cancer Society. About breast cancer. 2016 (diunduh April 2018). Tersedia dari: <https://www.cancer.org/content/dam/CRC/PDF/Public/8577.00.pdf>
6. Gil A, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: classic and novel actions. *Ann Nutr Metab.* 2018;72:87-95
7. Michael B, Sergio D, Daniel D, Andreas H, Dirk K, Michael M, Walter F, Thomas R, Arnoud T, Beat T. Vitamin D levels in swiss breast cancer survivors. *Swiss Med Wkly.* 2018;148(w14576):1-12.
8. Edwards BJ. Anticancer effects of vitamins. *The American journal of hematology/oncology.* 2015;11(10): 26-36.
9. Fleet JC, Desmet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanism. *Biochem J.* 2012;44(1): 61-76.
10. Rastogi RP, Richa, Sinha RP. "Apoptosis: molecular mechanisms and pathogenicity." *Excli Journal.* 2009;8:155–81.
11. Al-Bahlani SA, Al-Rashdi RM, Kumar S, Al-Sinawi, SS, Al-Bahri MA, Shalaby AA. Calpain-1 expression in triple-negative breast cancer: a potential prognostic factor independent of the proliferative/apoptotic index. *BioMed Research International.* 2017:1-10.
12. Moukayed M, William B. Grant. Molecular link between vitamin D and cancer prevention. *Nutrient.* 2013;5(10):3993–4021.
13. Holick M, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MA, Weaver CM. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(7):1911–30.
14. Galluzzi L, Vitale I. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death. *Springer nature cell death and differentiation.* 2018;25:486-541.
15. Imtiaz S, Siddiqui N, Raza SY, Loya S, Muhammad A. Vitamin D deficiency in newly diagnosed breast cancer patients. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2012;16(3):409-13.
16. Wu YY, Sarkissyan M, Clayton S, Chlebowski C, Jaydutt V. Vadgama. Association of vitamin D3 level with breast cancer risk and prognosis in african-american and hispanic women. *Cancers.* 2017;9(144):1-15.
17. Hatse S, Lambrecht D, Verstuyf A, Smeets A, Brouwer B, *et al.* Vitamin D status at breast cancer diagnosis: correlation with tumor characteristics, disease outcome, and genetic determinants of vitamin D insufficiency. *Carcinogenesis.* 2012; 33(7):1319–26.
18. Wacker M, Holick MF. Sunlight and vitamin D: a global perspective for health. *Dermatoencocrinology.* 2013;1;5(1):51-108.
19. Bappeda provinsi Sumatera Utara. Geografi. Tersedia dari: <http://bappeda.sumutprov.go.id/index.php/potensi-daerah/141-aspek-geografi-dan-demografi>
20. Ghavami S, Hashemi M, Ande SR, Yeganeh B, Xiao W, Eshraghi M, Bus CJ, Kadkhoda K, Wiechec E, Halayko AJ, Los M. Apoptosis and cancer: mutations within caspase genes. *J Med Genet.* 2009;46(8):497-510.
21. Arisanty D. In vitro cytotoxic study and detection of apoptosis on breast cancer cell lines MDA-MB 231 after exposed to Azadirachta Indica A. Juss (neem) Extract. *Jurnal Kesehatan Andalas.* 2013; 2(2):80-4
22. Fedirko V, Bostick RB, Flanders WD, Long Q, Shaukat A, Rutherford RE, Daniel CR, Cohen V, Dash C. Effects of vitamin D and calcium supplementation on markers of apoptosis in normal colon mucosa: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila).* 2009;2(3):213–23.
23. Mathiasen IS, Lademann U, Ja" A" Ttela" M. Apoptosis induced by vitamin D compounds in breast cancer cells is inhibited by Bcl-2 but does not involve known Caspases Or P531. *Cancer Research.* 1999;59:4848–56.