

**PENGARUH EKSTRAK RIMPANG KUNIR PUTIH (*Curcuma
alba*) TERHADAP SEBUKAN SEL MONONUKLEAR PADA
SEL ADENOKARSINOMA MAMMA**

Studi Eksperimental terhadap Mencit C3H yang Diinokulasi *Adenokarsinoma*

Mamma

Karya Tulis Ilmiah

untuk memenuhi sebagian persyaratan

untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Yoga Paripurna

01.207.5432

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

2011

Karya Tulis Ilmiah

**PENGARUH EKSTRAK RIMPANG KUNIR PUTIH (*Curcuma alba*)
TERHADAP SEBUKAN SEL MONONUKLEAR PADA SEL
ADENOKARSINOMA MAMMA**

**Studi Eksperimental terhadap Mencit C3H yang Diinokulasi
*Adenokarsinoma Mamma***

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :

Yoga Paripurna

01.207.5432

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

pada tanggal 4 Februari 2011

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



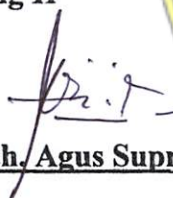
dr. H. Sumarno, Msi Med, Sp PA

Anggota Tim Penguji



dr. Hj. Chodidjah, M.Kes

Pembimbing II



dr. H. Moch. Agus Suprijono, M.Kes



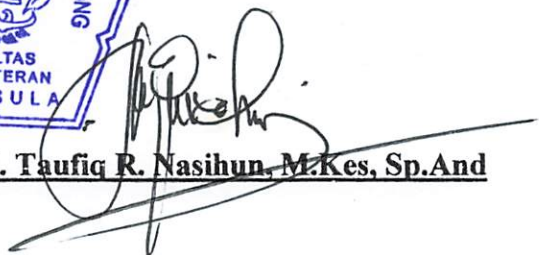
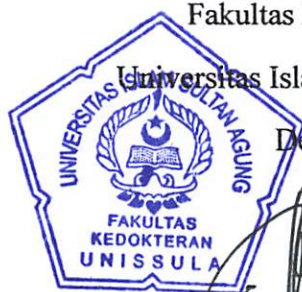
dr. Ophi Indria Desanti, MPH

Semarang, Februari 2011

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Taufiq R. Nasihun, M.Kes, Sp.And

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas semua berkah dan anugerah-Nya sehingga Karya Tulis Ilmiah dengan judul “ Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunir Putih (*Curcuma alba*) terhadap Sebukan Sel Mononuklear pada Sel Adenokarsinoma Mamma” ini dapat terselesaikan.

Karya Tulis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada:

1. Dr. dr. H. Taufiq R Nasihun, M.Kes, Sp.And., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Soemarno dan dr. Agus S., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
3. dr. Khadijah dan dr. Ophie, selaku dosen penguji yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Pak Slamet, Ibu Puspita, dan seluruh staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UI Jakarta.

5. Papa, Mama, Mbak Nina, Mas Rida, Mas Imam, Olivia, dan Dio penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tulus dan ikhlas atas cinta, kasih sayang, dukungan serta doa yang tiada henti.
6. Sakti, Lirans, dan Annisa atas dukungan moral dan spiritualnya.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis hanya bisa berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
INTISARI	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Praktis	4
1.4.2 Manfaat Teoritis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kanker Payudara	6
2.1.1 Definisi.....	6
2.1.2 Epidemiologi.....	6
2.1.3 Faktor Resiko.....	7

2.1.4 Patogenesis.....	9
2.1.5 Faktor Predisposisi dan Manifestasi Klinis	10
2.1.6 Prognosis	12
2.2 Sel Mononuklear	14
2.2.1 Sel NK.....	15
2.2.2 Makrofag.....	16
2.2.3 CTL/CD8 ⁺	17
2.2.4 Dendritik	18
2.3 <i>Curcuma alba</i>	18
2.4 Proses Inokulasi.....	20
2.5 Pengaruh Ekstrak Rimpang Kunir Putih terhadap Kanker Payudara.....	22
2.6 Kerangka Teori.....	23
2.7 Kerangka Konsep.....	23
2.8 Hipotesis.....	23
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	24
3.2 Variabel dan Definisi Operasional	24
3.2.1 Variabel	24
3.2.2 Definisi Operasional.....	24
3.3 Populasi dan Sampel	25
3.3.1 Populasi.....	25
3.3.2 Sampel.....	25

3.3.1 Populasi.....	25
3.3.2 Sampel.....	25
3.4 Bahan dan Alat.....	27
3.4.1 Bahan Penelitian	27
3.4.2 Alat-alat Penelitian.....	27
3.5 Cara Pengumpulan Data Penelitian.....	27
3.6 Tempat dan Waktu	
3.6.1. Tempat.....	29
3.6.2. Waktu.....	30
3.7 Analisis Hasil Penelitian	30
3.8 Alur Penelitian	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	32
4.2 Pembahasan.....	35
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Simpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Penilaian Sebukan Sel Mononuklear.....	25
Tabel 4.1 Hasil Rerata Kadar SGPT Kelompok Kontrol, I, II dan III	32
Tabel 4.2 Hasil Uji Normalitas Kelompok Kontrol, I, II dan III	33
Tabel 4.3 Hasil Uji Mann Whitney.....	33



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran I	Prosedur Transplantasi Jaringan Tumor pada Mencit C3H	41
Lampiran II	Prosedur Pembuatan Preparat Tumor.....	43
Lampiran III	Perhitungan Dosis Ekstrak Rimpang <i>Curcuma alba</i>	46
Lampiran IV	Cara Pembuatan Ekstrak Rimpang <i>Curcuma alba</i>	47
Lampiran V	Hasil Sebaran Sel Mononuklear Kelompok Kontrol dan Perlakuan	48
Lampiran VI	Hasil Analisis Data dengan SPSS	49
Lampiran VII	Surat Keterangan Penelitian	53
Lampiran VIII	Foto-Foto Penelitian.....	55



INTISARI

Kanker payudara memiliki insidensi kematian yang tinggi di dunia. Setiap 3 menit seorang wanita didiagnosa dengan kanker payudara, setiap 12 menit seorang mati karena kanker payudara, dan setiap tahunnya mencapai 5000 orang wanita ras Afrika-Amerika yang mati karena kanker penyakit ini. Pada neoplasma, infiltrasi sel mononuklear merupakan indikator untuk prognosis yang baik. Ekstrak rimpang kunir putih (*Curcuma alba*) mempunyai kandungan curcumin yang berpotensi sebagai anti-tumor pada payudara dan prostat. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh ekstrak rimpang kunir putih terhadap sebaran sel mononuklear pada Adenokarsinoma Mamma.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* menggunakan mencit C3H yang diinokulasi Adenokarsinoma Mamma, masing-masing kelompok terdapat 6 ekor tikus. K-Kontrol sebagai kontrol diberi pakan standar, aquades, tanpa ekstrak kunir putih; K-I diberi pakan standar, aquades, ekstrak kunir putih 8 mg/hari ; K-II diberi pakan standar, aquades, ekstrak kunir putih 16 mg/hari ; K-III diberi pakan standar, aquades, ekstrak kunir putih 32 mg/hari. Mencit diberikan perlakuan ekstrak setelah timbul benjolan dan diterminasi setelah 3 minggu diberi ekstrak rimpang kunir putih.

Hasil rerata jumlah sebaran sel mononuklear yaitu K-Kontrol 0,466, K-I 0,001, K-II 0,031, K-III 0,059. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *uji Kruskal Wallis* hasilnya terdapat perbedaan jumlah sebaran sel mononuklear antar kelompok ($p < 0,005$). Kemudian data dianalisis dengan *uji Mann Whitney*, menunjukkan ada perbedaan signifikan antara K-Kontrol dengan K-II dan K-III ($p < 0,05$). Selain itu, antara K-I dengan K-II dan K-III juga ada perbedaan signifikan. Akan tetapi, antara K-Kontrol dengan K-I tidak ditemukan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Begitu pula dengan K-II dengan K-III juga tidak ditemukan perbedaan yang signifikan.

Dapat disimpulkan bahwa ada pengaruh ekstrak rimpang kunir putih terhadap sebaran sel mononuklear pada Adenokarsinoma Mamma

Kata kunci : Kanker payudara (Adenokarsinoma mamma), Sebaran sel mononuklear, Ekstrak rimpang kunir putih (*Curcuma alba*)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Kanker adalah permasalahan kesehatan utama di seluruh dunia yang menjadi salah satu penyebab dari kematian dan kecacatan pada anak-anak maupun dewasa. Kanker timbul dari proliferasi yang tidak terkontrol dan penyebaran “clones” sel transformasi. Pertumbuhan dari tumor ganas ditentukan oleh kemampuan proliferasi dari sel tumor dan kemampuannya untuk menyerang jaringan host dengan adanya metastasis ke jaringan yang jauh. Kemungkinan kanker dapat diperbaiki oleh respon imun spesifik yang mempunyai daya dorong untuk ketahanan tubuh dalam dasar imunologi tumor (Abbas, 2007). Tidak ada kanker yang lebih ditakuti oleh perempuan selain karsinoma payudara, dan hal ini bukan tanpa alasan. Setiap 3 menit seorang wanita didiagnosa dengan kanker payudara, setiap 12 menit seorang wanita mati karena kanker payudara, dan setiap tahunnya mencapai 5000 orang wanita ras Afrika-Amerika yang mati karena penyakit ini (Henry, 2007). Banyak tumor mengandung infiltrasi sel-sel mononuklear yang terdiri dari sel T, sel NK, dan makrofag (Kresno, 2007). Pada neoplasma, infiltrasi sel mononuklear merupakan indikator untuk prognosis yang baik. Sistem imun dapat langsung menghancurkan sel kanker tanpa sensitasi sebelumnya (Baratawidjaya, 2004).

Berdasarkan data WHO pada tahun 2004, kematian oleh karena kanker di dunia mencapai 7,4 juta jiwa diantaranya kanker payudara mencapai 519.000 orang dan menempati peringkat ke-5 berdasarkan kematian terbanyak

(World Health Organization, 2006). Kanker payudara paling sering terjadi pada perempuan yang lebih dari 40 tahun sebagai penyebab kematian kedua pada perempuan (setelah kanker paru) di Amerika Serikat. Pada tahun 1973 hingga 1991, insidensi kanker payudara invasif di Amerika Serikat meningkat 25,8% pada kaukasian dan 30,3 % pada keturunan Amerika-Afrika, atau secara kasar adalah 2% per tahun (Wilson, 2005). Total kejadian setiap tahunnya 85 per 100000 di Amerika. Sedangkan di Eropa, yang paling sering terjadi di Belanda dengan kejadian 70 per 100000 dan insidensi paling sedikit di Spanyol dengan 43 per 100000. Lebih sedikit ditemukan di Jepang dengan insidensi 25 per 100000. Insidensi dari kanker payudara meningkat secara bertahap selama 5 tahun terakhir (Khan, 2006). Dari data registrasi kanker di Indonesia, kanker payudara menempati peringkat tertinggi ke dua setelah kanker mulut rahim. Di Semarang pada tahun 1999, kanker payudara menduduki tempat kedua sebanyak 12,16% (Sarjadi, 2001).

Kanker payudara pada stadium dini tidak menimbulkan keluhan dan rasa sakit. Salah satu tanda yang diamati pada stadium dini adalah adanya benjolan kecil di payudara. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa kanker payudara merupakan salah satu kanker yang bila pemeriksaan dan pengobatannya dilakukan pada stadium awal dapat menurunkan angka kematian (Henderson, 2000). Penggunaan obat herbal untuk mengobati kanker diaplikasikan pada kanker yang terdiagnosis sejak dini. Kanker biasanya diobati dengan kemoterapi yang mengandung bahan toksik, tidak hanya merusak sel tumor tetapi juga sel normal dan adanya efek samping. Selain itu penanganannya yang mahal dan belum tentu berhasil. Sedangkan pengobatan tradisional secara umum bebas dari efek samping dan biasanya tidak mahal.

Banyak kalangan medis yang menganjurkan kepada pasien untuk menggunakan obat herbal seiring dengan hasil penelitian tentang kandungan dan manfaat dari tanaman obat (Mangan, 2009).

Curcuma alba atau kunir putih merupakan salah satu tanaman obat multikhasiat. Bagian tanaman yang digunakan untuk obat adalah rimpangnya. Kandungan kimia yang ada di dalamnya adalah saponin, polifenol, kurkumin (Mangan, 2009). Kurkumin menunjukkan secara efektif mencegah kanker payudara, kanker prostat, kanker usus, dan kanker mulut. Ekstrak yang berisi kurkumin sudah digunakan di India untuk pengobatan luka pada kulit, inflamasi, gangguan hati dan lambung, dan batuk kronis (Somasundaram, 2002). Penelitian Retno S. Sudibyo yang dimuat di Tempo, Mei 1999, menyatakan bahwa *Curcuma alba* mengandung protein toksis sejenis *Ribosome Inactivating Protein* (RIP). Protein ini mampu menonaktifkan ribosom sehingga sintesis protein dalam sel terganggu. Protein tersebut mudah melakukan penetrasi ke dalam sel sehat, sehingga sel kanker tidak dapat berkembang biak. Sifat RIP ini adalah menghambat perkembangan sel kanker sekaligus mencegah kerusakan gen, salah satu penyebab timbulnya kanker (Sadewo, 2007). Selain itu, kurkumin sudah terbukti selama 2 dekade terakhir yang dianggap dapat memodulasi aktivasi sel B, sel T, neutrofil, *natural killer cell*, dan sel dendrit. Penelitian lain menunjukkan kelemahan *tumor exosome* dimediasi oleh hambatan NK sebagai khasiat antikanker dari kurkumin (Jagetia, 2007). Oleh karena itu, peneliti hendak mengetahui apakah ada pengaruh ekstrak rimpang kunir putih terhadap sekukan sel mononuklear pada sel Adenokarsinoma Mamma.

1.2 . PERUMUSAN MASALAH

Apakah ada pengaruh ekstrak rimpang *Curcuma alba* terhadap sebulan sel mononuklear pada Adenokarsinoma Mamma ?

1.3 . TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Mengamati pengaruh pemberian ekstrak rimpang *Curcuma alba* terhadap sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Membandingkan sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H antara kelompok yang diberi ekstrak rimpang *Curcuma alba* dengan kelompok yang tidak diberi.

1.3.2.2 Membandingkan sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H yang diberi ekstrak rimpang *Curcuma alba* antara masing-masing kelompok dosis.

1.4.MANFAAT HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian ini diharapkan dapat :

1.4.1. Manfaat Praktis :

1.4.1.1. Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak rimpang *Curcuma alba* terhadap sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H pada berbagai tingkatan dosis.

1.4.1.2. Memberikan informasi mengenai kegunaan ekstrak rimpang *Curcuma alba* sebagai salah satu alternatif terapi kanker payudara.

1.4.2. Manfaat Teoritis

1.4.2.1. Memberikan informasi mengenai efek kandungan secara imunologi dari *Curcuma alba*.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. KANKER PAYUDARA

2.1.1. Definisi

Kanker payudara adalah kanker yang memperlihatkan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi duktus atau lobus payudara. Pada awalnya, hanya terdapat hiperplasi sel dengan perkembangan sel-sel yang atipikal. Sel-sel ini kemudian berlanjut menjadi karsinoma in situ dan menginvasi stroma. Kanker membutuhkan waktu 7 tahun untuk tumbuh dari satu sel menjadi massa yang cukup besar untuk dapat dipalpasi (kira-kira berdiameter 1 cm). Pada ukuran itu, sekitar 25% kanker payudara sudah mengalami metastasis (Kathleen, 2005).

2.1.2. Epidemiologi

Di seluruh dunia kanker payudara 10,4% dari insiden semua kanker pada wanita, menempati peringkat ke 2 kanker terbanyak yang diderita wanita setelah kanker paru-paru. Berdasarkan data WHO pada tahun 2004 kematian oleh karena kanker di dunia mencapai 7,4 juta jiwa diantaranya kanker payudara mencapai 519.000 orang dan menempati peringkat ke 5 berdasarkan kematian terbanyak setelah kanker paru-paru, lambung, usus, dan hati. Diperkirakan kematian oleh kanker di dunia pada tahun 2030 mencapai 12 juta orang (*World Health Organization, 2006*).

Sebagian besar kanker payudara adalah Adenokarsinoma. Terdapat dua jenis utama histologi Adenokarsinoma pada payudara, yang berasal dari duktus terminalis dan unit-unit lobular. *Karsinoma payudara in situ non invasive* (misal, karsinoma duktus in situ [DCIS] atau karsinoma lobular in situ [LCIS]) adalah di dalam lumen duktus atau lobulus. *Karsinoma invasif atau infiltrative* telah menyebar ke dalam stroma payudara dan ada kemungkinan penyebaran metastasis. *Karsinoma duktus invasive* adalah jenis kanker payudara yang paling sering, menyebabkan 80% hingga 85 % dari semua kanker payudara. *Karsinoma lobular invasive* adalah jenis kanker payudara kedua yang paling sering (sekitar 10%) (Kathleen, 2005).

2.1.3. Faktor Risiko (Kumar, 2004)

Ada berbagai jenis kanker payudara, dengan tahapan yang berbeda (menyebar), agresivitas, dan macam dari genetiknya sehingga prognosis hidup sangat bervariasi tergantung pada faktor-faktor yang mempengaruhi. Penyebab kanker payudara belum dapat ditentukan namun terdapat beberapa faktor resiko yang telah ditetapkan, keduanya adalah lingkungan dan genetik (Mangan, 2009). Faktor-faktor yang berkaitan dengan dengan peningkatan resiko kanker payudara adalah:

2.1.3.1. Variasi geografik. Resiko untuk neoplasia ini secara bermakna lebih tinggi di Amerika Utara dan Eropa Barat dibandingkan di Asia dan Afrika. Sebagai contohnya ,insidensi dan angka kematian lima kali lebih tinggi di

Amerika Serikat daripada di Jepang. Perbedaan ini tampaknya lebih disebabkan oleh faktor lingkungan daripada faktor geografik karena kelompok migran dari daerah dengan insidensi tinggi cenderung mencapai angka Negara tujuan, dan demikian sebaliknya. Makanan, pola reproduksi, dan kebiasaan menyusui diperkirakan berperan.

2.1.3.2. Usia. Kanker payudara jarang terjadi pada perempuan kurang dari 30 tahun. Setelah itu, resiko meningkat secara tetap sepanjang usia, tetapi setelah menopause bagian menanjak dari kurva hampir mendatar.

2.1.3.3. Genetika dan riwayat keluarga. Sekitar 5 hingga 10% kanker payudara berkaitan dengan mutasi herediter spesifik. Perempuan lebih besar kemungkinannya membawa gen kerentanan kanker payudara jika mereka mengidap kanker payudara sebelum menopause, mengidap kanker payudara sebelum menopause, mengidap kanker payudara bilateral, mengidap kanker terkait lain (misal kanker ovarium), memiliki riwayat keluarga yang signifikan, atau berasal dari etnik tertentu.

2.1.3.4. Paparan lama ke estrogen eksogen pascamenopause, yang dikenal sebagai terapi sulih estrogen. Dimana terapi ini juga menyebabkan peningkatan moderat insidensi kanker payudara. Insidensi sedikit lebih tinggi pada perempuan yang menggunakan kombinasi estrogen dan progesteron.

2.1.3.5. Kontrasepsi oral juga dicurigai meningkatkan risiko kanker payudara. Walaupun buktinya juga saling bertentangan, formulasi yang baru berupa dosis rendah seimbang estrogen dan progestin hanya sedikit meningkatkan risiko, yang lenyap 10 tahun setelah penghentian pemakaiannya.

2.1.3.6. Radiasi pengion ke dada meningkatkan risiko kanker payudara. Besar risiko bergantung pada dosis radiasi, waktu sejak pajanan, dan usia. Hanya perempuan yang diiradiasi sebelum usia 30 tahun, saat perkembangan payudara, yang tampaknya terkena.

Faktor-faktor lainnya (Mangan, 2009) :

- 2.1.3.7. Keadaan sosioekonomi yang rendah
- 2.1.3.8. Awitan dini menarke (haid pertama kurang dari 10 tahun)
- 2.1.3.9. Terlambatnya kelahiran anak pertama
- 2.1.3.10. Menopause yang terlambat
- 2.1.3.11. Keadaan nulipara (Tidak pernah melahirkan anak)
- 2.1.3.12. Faktor-faktor makanan (Obesitas dan asupan alkohol yang tinggi)

2.1.4. Patogenesis

Kanker payudara sama seperti kanker lainnya yang masih belum diketahui, namun perubahan genetik diduga berperan dalam timbulnya kanker payudara sporadik. Seperti pada sebagian besar kanker lainnya, mutasi yang mempengaruhi protoonkogen dan gen penekan tumor di epitel payudara ikut serta dalam proses

transformasi onkogenik. Diantara berbagai mutasi tersebut yang paling penting adalah ekspresi berlebihan protoonkogen ERBB2, yang diketahui mengalami amplifikasi pada hampir 30% kanker payudara. Ekspresi terbungkus membrane ini hampir selalu disebabkan oleh amplifikasi gen. Oleh karena itu, ekspresi berlebihan dapat ditentukan dengan imunohistokimia (yang mendeteksi protein di potongan jaringan) atau dengan *fluorescence in situ hybridization* (yang mendeteksi jumlah salinan gen). Ekspresi berlebihan berkaitan dengan prognosis yang buruk. Namun, makna evaluasi ERBB2 adalah untuk memperkirakan respons terhadap antibodi antitumor yang didasarkan pada kelainan gen spesifik yang terdapat di tumor (Kumar, 2004).

2.1.5. Faktor Predisposisi dan Manifestasi Klinis

2.1.5.1. Faktor Predisposisi

Kanker payudara sedikit lebih sering mengenai payudara kiri daripada kanan. Pada sekitar 4% pasien ditemukan tumor bilateral atau tumor sekuensial di payudara yang sama. Lokasi tumor di dalam payudara adalah sebagai berikut : (Wilson, 2005)

- Kuadran luar atas
- Bagian sentral
- Kuadran luar bawah
- Kuadran dalam atas
- Kuadran dalam bawah

Kanker payudara memperlihatkan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi duktus atau lobus payudara. Pada awalnya hanya terdapat hiperplasia sel dengan perkembangan sel-sel yang atipikal. Sel-sel ini kemudian berlanjut menjadi karsinoma in situ dan menginvasi stroma. Kanker membutuhkan waktu yang cukup lama untuk dapat di palpasi (kira-kira berdiameter 1 cm). Pada ukuran itu, sekitar 25 % kanker payudara sudah mengalami metastasis (Kathleen, 2005). Penyebaran kanker payudara terjadi dengan invasi langsung ke parenkim payudara, sepanjang duktus mamaria, pada kulit permukaan dan meluas melalui jaringan limfatik payudara. Kelenjar getah bening regional yang terlibat adalah aksilaris, mamaria interna, dan kelenjar supraklavikular (Kumar, 2004).

2.1.5.2. Manifestasi

Kanker payudara pada stadium dini tidak menimbulkan keluhan dan rasa sakit. Salah satu tanda yang dapat diamati pada stadium dini adalah adanya benjolan kecil di payudara. Sementara, beberapa keluhan yang dirasakan oleh penderita pada stadium lanjut sebagai berikut : (Mangan, 2009)

2.1.5.1. Jika diraba dengan tangan, terasa ada benjolan di payudara

2.1.5.2. Jika diamati, bentuk, dan ukuran payudara berbeda dengan sebelumnya

2.1.5.3. Ada luka dan eksim di payudara dan puting susu yang tidak dapat sembuh meskipun telah diobati

2.1.5.4. Keluar darah atau cairan encer dari puting susu

2.1.5.5. Puting susu masuk memuntir ke dalam payudara

2.1.5.6. Kulit payudara berkerut seperti kulit jeruk

2.1.6. Prognosis

Prognosis kanker payudara dipengaruhi oleh variable berikut :

(Kumar, 2004)

2.1.6.1. Ukuran karsinoma primer. Pasien dengan karsinoma invasif lebih kecil daripada 1 cm memiliki harapan hidup yang sangat baik jika tidak terdapat keterlibatan kelenjar getah bening dan mungkin tidak memerlukan terapi sistemik.

2.1.6.2. Keterlibatan kelenjar getah bening dan jumlah kelenjar getah bening yang terkena metastasis. Jika tidak ada kelenjar ketiak yang terkena, angka harapan hidup menurun bersama setiap kelenjar getah bening yang terkena dan menjadi kurang dari 50%.

2.1.6.3. Derajat karsinoma. Sistem penentuan derajat yang paling umum untuk kanker payudara mempertimbangkan pembentukan tubulus, derajat nukleus, dan angka mitotik

untuk memilah karsinoma menjadi 3 kelompok. Karsinoma berdiferensiasi baik memiliki prognosis yang secara bermakna lebih baik dibandingkan dengan karsinoma yang berdiferensiasi buruk. Karsinoma berdiferensiasi sedang pada awal hidupnya memiliki prognosis baik, tetapi harapan hidup pada 20 tahun mendekati angka untuk karsinoma yang berdiferensiasi buruk.

2.1.6.4. Tipe histologik karsinoma. Semua tipe khusus karsinoma payudara (tubulus, medular, lobulus, papilar, dan musinosa) memiliki prognosis yang sedikit banyak lebih baik daripada karsinoma tanpa tipe khusus.

2.1.6.5. Invasi Limfovaskular. Adanya tumor di dalam rongga vascular di sekitar tumor primer merupakan faktor prognosis yang buruk, terutama jika tidak terdapat metastasis ke kelenjar getah bening. Invasi limfovaskular dermis berkaitan dengan gambaran klinis berupa karsinoma inflamasi dan memiliki prognosis yang sangat buruk.

2.1.6.6. Ada tidaknya reseptor estrogen atau progesteron. Adanya reseptor hormon menyebabkan prognosis sedikit membaik. Namun, alasan untuk menentukan keberadaan reseptor tersebut adalah untuk memperkirakan respons terhadap terapi. Angka tertinggi respons (sekitar 80%) terhadap terapi antiestrogen (ooforektomi atau tamoksifen) ditemukan pada pasien yang tumornya memiliki reseptor estrogen dan progesteron. Angka respons yang lebih rendah (25% hingga

45%) ditemukan jika hanya terdapat salah satu reseptor. Jika kedua reseptor tidak ada, sangat sedikit (kurang dari 10%) pasien yang diperkirakan berespon.

2.1.6.7. Laju proliferasi kanker. Proliferasi dapat diukur dari hitung mitotik, *flow cytometri*, atau dengan penanda imuno histokimia untuk protein siklus sel. *Hitung mitotic* merupakan bagian dari sistem penentuan derajat. Metode optimal untuk mengevaluasi proliferasi belum diketahui pasti. Laju proliferasi yang tinggi berkaitan dengan prognosis yang lebih buruk.

2.1.6.8. Aneuploidi. Karsinoma dengan kandungan DNA abnormal (aneuploidi) memiliki prognosis sedikit lebih buruk dibandingkan dengan karsinoma dengan kandungan DNA serupa dengan sel normal.

2.1.6.9. Ekspresi berlebihan ERBB2. Ekspresi berlebihan protein terbungkus membran ini hampir selalu disebabkan amplifikasi gen. Oleh karena itu, ekspresi berlebihan dapat ditentukan dengan imunohistokimia (yang mendeteksi protein di potongan jaringan) atau dengan *fluorescence insitu hybridization* (yang mendeteksi jumlah salinan gen).

2.2. SEL MONONUKLEAR

Sistem imun diperlukan tubuh untuk mempertahankan keutuhannya terhadap bahaya yang dapat ditimbulkan berbagai bahan dalam lingkungan hidup. Imunitas kanker ialah proteksi sistem imun terhadap timbulnya kanker salah satunya melalui sel-sel darah putih (Baratawidjaya, 2004). Beberapa

bukti yang mendukung bahwa ada peran sistem imun dalam melawan tumor ganas diperoleh dari beberapa penelitian, di antaranya yang mendukung teori itu adalah banyak tumor mengandung infiltrasi sel-sel mononuklear yang terdiri dari sel T, sel NK, dan makrofag (Kresno, 2007).

Pada pemeriksaan patologi anatomi kanker, sering ditemukan infiltrat sel-sel yang terdiri atas sel fagosit mononuklear, limfosit, sedikit sel plasma, dan sel mast. Pada neoplasma, infiltrasi sel mononuklear merupakan indikator untuk prognosis yang baik. Sistem imun dapat langsung menghancurkan sel kanker tanpa sensitasi sebelumnya (Baratawidjaya, 2004).

2.2.1. Sel NK (*Natural Killer cell*)

Sel NK adalah limfosit sitotoksik yang mengenal sel sasaran yang tidak antigen spesifik dan juga tidak MHC dependen. Diduga bahwa fungsi terpenting sel NK adalah antikanker, terutama sel yang menurunkan MHC ekspresi kelas I. Sel NK juga mengekspresikan IgG-R yang dapat membunuh sel sasaran ADCC dan melalui pelepasan protease, perforin, dan *granzym* (Baratawidjaya, 2004).

Kemampuan membunuh sel tumor ditingkatkan oleh sitokin, termasuk IFN, TNF, IL-2, dan IL-12. Karena itu peran sel NK dalam aktivitas anti tumor bergantung pada rangsangan yang terjadi secara bersamaan pada sel T dan makrofag yang memproduksi sitokin tersebut. Ketiga jenis IFN dapat meningkatkan fungsi sel NK. IFN mengubah pre NK menjadi sel NK yang mampu mengenal dan melisis sel sasaran, mempermudah interaksi dengan dan lisis sel sasaran. Sel NK mungkin berperan dalam *immune surveillance* terhadap tumor yang sedang tumbuh, khususnya tumor yang mengekspresikan antigen virus. Aktivitas sel NK sering dihubungkan dengan prognosis.

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ada korelasi antara penurunan kemampuan sitotoksitas sel NK dengan peningkatan resiko metastasis. Dari penelitian-penelitian itu disimpulkan bahwa sitotoksitas alami dapat berperan dalam mencegah pertumbuhan kanker dan metastasis (Kresno, 2007).

2.2.2. Makrofag

Makrofag memiliki enzim dengan fungsi sitotoksik dan mediator oksidatif seperti superoksid dan oksida nitrit. Makrofag juga melepas TNF-alfa yang mengawali apoptosis. Diduga makrofag mengenal sel kanker melalui IgG-R yang berikatan dengan antibodi kanker. Makrofag juga dapat memakan, mencerna sel kanker, dan mempresentasikannya ke sel CD4+ (Baratawidjaya, 2004)

Makrofag juga dapat berfungsi sebagai inisiator dan efektor imun yang potensial terhadap kanker. Beberapa bukti yang mendukung hipotesis ini adalah : (Kresno, 2007)

- Makrofag dapat berakumulasi dalam jumlah besar dalam jaringan tumor
- Makrofag mempunyai kemampuan alami atau apabila diaktifkan untuk melisiskan sel sasaran
- Penekanan fungsi makrofag diasosiasikan dengan peningkatan insidens tumor dan metastasis
- Transfer adoptif makrofag yang diaktifkan *in vitro* maupun *in vivo* menghambat penyebaran tumor
- Beberapa jenis karsinogen dapat menekan fungsi retikuloendotel

- Stimulasi makrofag dengan berbagai imunomodulator diasosiasikan dengan berkurangnya pertumbuhan tumor atau insiden tumor

2.2.3. CTL/CD8+

Cytotoxic T Lymphocytes (CTL) atau dikenal sebagai Tc merupakan subpopulasi sel T limfosit yang berperan dalam destruksi sel kanker. Sel Tc tersebut diaktifkan oleh IL-2, TNF alfa, dan IFN gama. Kemudian akan menghasilkan perforin yang akan melubangi membrane sel kanker sehingga sel kanker mati. Sel Tc ini memiliki spesifitas terhadap antigen permukaan sel kanker terutama antigen MHC kelas 1. Populasi CTL yang diaktifkan sering dijumpai dalam bentuk *Large Granular Lymphocyte* (LGL). Sebagian dari LGL ini juga menunjukkan sifat yang sama dengan *Natural Killer cell* (Sahil F, 2001).

Pada banyak penelitian terbukti bahwa sebagian besar sel efektor yang berperan dalam mekanisme anti tumor adalah Sel T CD8⁺, yang secara fenotip dan fungsional identik dengan CTL yang berperan dalam pembunuhan sel yang terinfeksi virus atau sel alogenetik. CTL dapat melakukan fungsi *surveillance* dengan mengenal dan membunuh sel-sel potensial ganas yang mengekspresikan peptida yang berasal dari protein selular mutan atau protein virus onkogenik yang dipresentasikan oleh MHC kelas I. Limfosit T yang menginfiltrasi jaringan tumor (*tumor infiltrating lymphocytes* = TIL) juga mengandung sel CTL yang memiliki kemampuan melisis sel tumor (Kresno, 2007).

2.2.4. Dendritik

Sel dendritik adalah APC yang terbaik untuk menginduksi respon utama CD8⁺ yang mempunyai kemampuan spesial untuk membunuh sel tumor dan menyampaikan antigen dari sel pada MHC kelas I. MHC kelas I mempunyai respon terhadap CD8⁺, sumber protein *antigen cytosolic*, tipe sel APC dari semua semua sel nukleat. MHC kelas II mempunyai respon terhadap CD4⁺, sumber protein antigen *endosomal/lysosomal* (Abbas, 2007).

GM-CSF mempengaruhi APC/Dendritik dengan menaikkan pengerahan dan kematangan sel dendrit yang mempresentasikan antigen tumor spesifik sel T dan CD8⁺ yang mengaktifasi sel T. Selain itu, juga merupakan APC yang paling efektif mengaktifasi CD4⁺ dan CD8⁺ (Abbas, 2007).

2.3. CURCUMA ALBA

Kunir putih memiliki nama ilmiah *Curcuma alba* Linn. atau *Curcuma mangga* Val. Tanaman ini dikenal dengan nama daerah temu mangga, temu lalab, temu pauh, koneng joho, koneng lalab, koneng pare, temu bayangan, dan temu paoh. Tanaman ini termasuk ke dalam tumbuhan Zingiberaceae dan di Jogjakarta dikenal sebagai kunir putih (Mangan, 2009).

Termasuk tanaman tahunan bersosok semak dengan tinggi 50-70 cm. Daunnya berbentuk lonjong dengan ujung yang runcing dan panjangnya 30-45 cm. Bunganya muncul dari ujung batang. Rimpangnya berasa manis, agak sedikit pahit, dan beraroma mangga segar atau kweni. Di beberapa daerah, rimpang mudanya sering dimanfaatkan untuk lalapan. Cara perbanyakan tanaman ini adalah dengan rimpang atau anakan rimpang yang telah berumur 9 bulan. Perbanyakan dengan rimpang muda akan mudah terserang penyakit (Sadewo, 2007).

Klasifikasi Ilmiah : (Mangan, 2009)

- Kingdom : *Plantae*
- Order : *Zingiberales*
- Family : *Zingiberaceae*
- Genus : *Curcuma*
- Species : *Curcuma Alba*

Bagian tanaman yang digunakan untuk obat adalah rimpangnya. Daging rimpang berwarna kuning muda dengan aroma haru seperti buah mangga, sangat mudah dipatahkan (getas), dan rasanya tidak pahit. Kunir putih bermanfaat untuk menyembuhkan luka akibat kanker dan tumor (Yellia Mangan,2009). Selain itu juga digunakan untuk mengatasi artritis, alergi, asma, aterosklerosis, penyakit hati, alzheimer, diabetes, and kanker dikarenakan memiliki kemampuan mengendalikan system imun. Dengan ini terbukti bahwa kunir putih sebagai terapi penyakit “immune disorder” (Jagetia, 2007).

Curcuma alba mempunyai kandungan kimia yang ada di dalamnya adalah *soponin, polifenol, curcumin, 2- caryophylen norbornane, 3-methylene, oxide, cyclopentane acetaldehyde, caryophylen, dan cinnamyltiglate* (Mangan,2009). Kandungan kurkumin dalam rimpang kunir putih bermanfaat sebagai anti-tumor dan anti inflamasi/anti radang (Mangan,2009). Sebagai Senyawa aktif tersebut kurkumin dapat meningkatkan antibodi spesifik dan mengendalikan pertumbuhan sel kanker. Oleh karena itu, kurkumin berpotensi sebagai anti-tumor pada payudara dan prostat (Fuchs JR, 2009).

Secara tradisional, *Curcuma alba* telah banyak digunakan sebagai antitumor. Menurut penelitian *The University of Texas M. D. Anderson*

Cancer Center of America, kurkumin sudah terbukti selama 2 dekade terakhir yang dianggap dapat memodulasi aktivasi sel B, sel T, neutrofil, *natural sel killer*, dan sel dendritik (Jagetia, 2007).

Pada penelitian *Université d'Auvergne, Centre d'Investigation Clinique, Clermont-Ferrand, France* menunjukkan kurkuma yang mengandung kurkumin direkomendasikan untuk pengobatan perkembangan dan metastasis kanker payudara dengan standar dosis 6000 mg/hari selama 3 minggu (Robert, 2009).

2.4. PROSES INOKULASI

Teknik transplantasi tumor menjadi suatu ketetapan penelitian di jaman modern ini khususnya pada penelitian eksperimental pada kanker. Hal ini dilakukan berkesinambungan selama bertahun-tahun untuk menyediakan informasi yang menghubungkan pengaruh genetik, kimia, hormonal, fisik, dan agen virus yang merupakan etiologi kanker dengan menyajikan juga kajian informasi aspek sel kanker secara biokimia dan imunologi (Liebelt, 1976).

Metode paling sering digunakan pada transplantasi tumor adalah *subcutaneous inoculation*. Jaringan dipotong hingga sesuai dengan ukuran yang diinginkan biasanya 1 mm². Dipantau di *isotonic saline* dan potongan-potongan kecil tumor yang digunting disimpan ke *14 gauge trocar*. Kemudian potongannya dimasukkan ke bagian diinginkan biasanya area inguinal dekstra berjalan ke aksila kanan (Liebelt, 1976).

Cara Pemindahan jaringan tumor ke resipien secara umum : (Liebelt, 1976)

- Menggunakan *trocar* yang tajam
- Pegang dengan erat kulit abdomen bagian ventral kulit

- Memasukkan *trocar* secara subkutan ke regio aksila hingga sekurangnya 1-2 cm dari titik penetrasinya
- Memasukkan jaringan dengan menggunakan *stylet lock*
- Tarik *trocar* ketika menekan dengan jari pada bagian yang dipenetrasi menghindari kebocoran dari jaringan tumor

Pemilihan mencit C3H dipilih karena digunakan untuk penelitian mengenai kanker. C3H merupakan hasil dari *homozygote* mempunyai MTV (*Mammary Tumor Virus*) sehingga adanya inokulasi tumor tidak dianggap sebagai antigen yang memudahkan tumbuhnya tumor (The Jackson laboratory, 2010).

Benjolan pada tumor timbul setelah melewati masa laten. Masa laten merupakan proses dari inokulasi tumor hingga timbulnya benjolan. Benjolan tumor dipengaruhi secara teori *Tumor-Host Relationship* (Liebelt, 1976) :

- Nutrisi

Adanya data kontroversial kanker meliputi kasus obesitas menyebabkan adanya kanker. Sebagai contoh adanya diet tinggi lemak menimbulkan tumbuhnya kanker lebih cepat.

- Faktor Psikis (Temperatur, Iritasi, dan Cahaya)

Temperatur bisa mempengaruhi kanker tumbuh lebih cepat yang terjadi pada inokulasi subkutaneus dengan suhu 92⁰F. Iritasi yang terjadi sewaktu inokulasi hingga menembus otot bisa mempercepat timbulnya kanker. Cahaya yang terlalu terang dan gelap menyebabkan retardasi pertumbuhan pada kelinci.

- Ritme Sirkadian

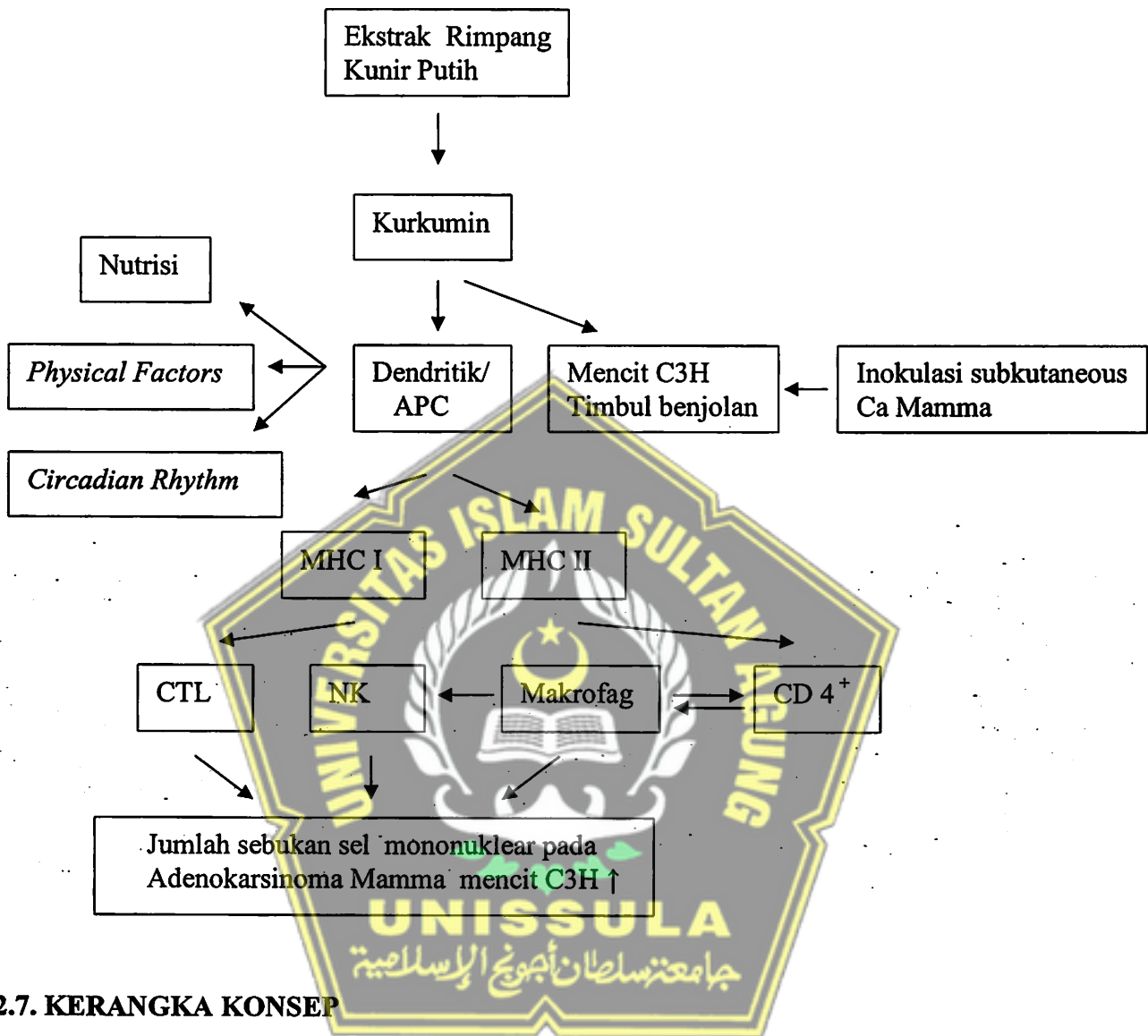
Ritme sirkadian mempengaruhi aktivitas mitosis dan eksperimen tumor secara subkutaneus pada tikus. Sebagai contoh ditemukannya perbedaan yang cukup signifikan aktivitas mitosis pada tengah malam dan 8 malam pada transplantasi *mammary carcinoma*.

2.5 PENGARUH EKSTRAK RIMPANG *CURCUMA ALBA* TERHADAP KANKER PAYUDARA

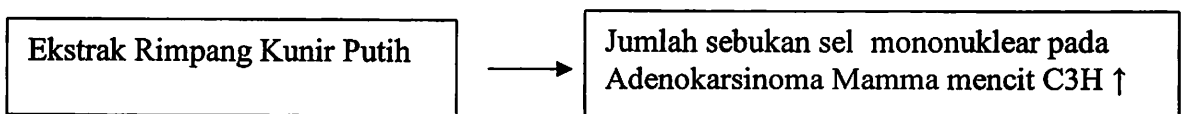
Kunir Putih dalam beberapa tahun terakhir ini di Indonesia telah dicobakan pada banyak kasus kanker antara lain adalah kanker payudara. Dari banyak pengalaman tersebut menunjukkan khasiat yang sangat menakjubkan dengan sembuhnya pasien-pasien yang menderita kanker yang dibuktikan dengan tes secara kedokteran medis atau tes laboratorium khusus (Indah, 2010).

Kunir putih (*Curcuma alba*) mempunyai kandungan kimia yang ada di dalamnya adalah *curcumin* (Mangan, 2009). Menurut penelitian *The University of Texas M. D. Anderson Cancer Center of America*, kurkumin sudah terbukti selama 2 dekade terakhir yang dianggap dapat memodulasi aktivasi sel B, sel T, neutrofil, *natural killer cell*, dan sel dendritik (Jagetia, 2007). Sel T, sel NK, dan makrofag merupakan infiltrasi sel-sel mononuklear (Kresno, 2007). Pada neoplasma, infiltrasi sel mononuklear merupakan indikator untuk prognosis yang baik. Sistem imun dapat langsung menghancurkan sel kanker tanpa sensitasi sebelumnya (Baratawidjaya, 2004).

2.6 KERANGKA TEORI



2.7. KERANGKA KONSEP



2.8. HIPOTESIS

Ada pengaruh ekstrak rimpang *Curcuma alba* terhadap sebukan sel mononuklear pada Adenokarsinoma Mamma.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. JENIS PENELITIAN DAN RANCANGAN PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post test only group control group design* yaitu dengan observasi akhir setelah perlakuan diberikan dengan menggunakan binatang coba sebagai objek penelitian.

3.2. VARIABLE DAN DEFINISI OPERASIONAL

3.2.1 Variabel Penelitian

3.2.1.1. Variabel Bebas

Sebagai variable bebas adalah ekstrak rimpang *Curcuma alba*

3.2.1.2. Variable Tergantung

Sebagai variable tergantung adalah sebulan sel mononuklear sekitar jaringan adenokarsinoma mamma mencit

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1. Ekstrak *Curcuma alba*

Ekstrak *Curcuma alba* adalah sediaan cair yang dibuat dari rimpang kunir putih. Ekstrak *Curcuma alba* dengan 3 kali dosis bertingkat diperoleh dari dosis standar kunir putih yang dikonversikan dari manusia ke mencit kemudian dosis tengah dibagi 2 dan dikali 2. Setelah itu, didapatkan 3 kelompok pemberian ekstrak berbagai tingkatan dosis.

Skala : Rasio

3.2.1.2. Sebulan sel mononuklear

Sebulan sel mononuklear pada sel kanker payudara disesuaikan penilaian jumlah sebulan sel mononuklear di sekitar jaringan kanker menurut sarjadi adalah sebagai berikut (Sarjadi, 2001) :

Tabel 3.1. Penilaian sebulan sel mononuklear

Sebulan sel mononuklear	Skor
a. Tidak ada (0-5 sel)	0
b. Sedikit (sampai dengan $\frac{1}{4}$ lapangan pandang)	1
c. Sedang ($\frac{1}{4}$ sampai dengan $\frac{1}{2}$ lapangan pandang)	2
d. Banyak (lebih dari $\frac{1}{2}$ lapangan pandang)	3

Skala : Rasio

3.3. POPULASI DAN SAMPEL

3.3.1. Populasi

Mencit sebagai sampel dipilih mencit strain C3H yang sehat, jenis kelamin betina dengan rata-rata usia 6 bulan, berat badan 20-30 gram.

3.3.2. Sampel

3.3.2.1. Kriteria Inklusi dan eksklusi

Sampel penelitian diperoleh dari populasi yang ada secara random, dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

3.3.2.1.1. Kriteria Inklusi

3.3.2.1.1.1 Mencit strain C3H yang telah diinokulasi

3.3.2.1.1.2. Sehat : sehat dari pengamatan luar, meliputi aktif bergerak, tidak cacat, nafsu makan normal, dan tidak terdapat luka luar.

3.3.2.1.1.3. Berat 20-30 gram.

3.3.2.1.2. Kriteria Eksklusi

3.3.2.1.2.1 Tidak tumbuh tumor setelah dilakukan inokulasi

3.3.2.1.2.2. Selama inokulasi dan perlakuan mencit tampak sakit

3.3.2.2. Besar Sampel

Kemudian menentukan besar sampel sesuai kriteria WHO minimal 5 ekor atau lebih dengan jumlah mencit C3H semua kelompok uji secara keseluruhan adalah 24 ekor, kemudian dibagi dalam 4 kelompok:

3.3.2.2.1. Kelompok Kontrol

Mencit yang mendapat perlakuan inokulasi bubuk tumor sebagai kontrol positif.

3.3.2.2.2.. Kelompok I

Mencit yang mendapat perlakuan inokulasi bubuk tumor selama satu minggu kemudian mendapat pemberian secara lokal ekstrak kunir putih dengan dosis kesatu.

3.3.2.2.3. Kelompok II

Mencit yang mendapat perlakuan inokulasi bubur tumor selama satu minggu kemudian mendapat pemberian secara lokal ekstrak kunir putih dengan dosis kedua.

3.3.2.2.4. Kelompok III

Mencit yang mendapat perlakuan inokulasi bubur tumor selama satu minggu kemudian mendapat pemberian secara lokal ekstrak kunir putih dengan dosis ketiga.

3.4. BAHAN DAN ALAT

3.4.1. Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah :

- 3.4.1.1. Ekstrak rimpang *Curcuma alba* dengan dosis 8 mg/hari, 16 mg/hari, 32 mg/hari yang diperoleh dari laboratorium MIPA Universitas Diponegoro Semarang diberikan peroral menggunakan sonde pada mencit C3H
- 3.4.1.2. Bahan-bahan untuk transplantasi tumor pada mencit
- 3.4.1.3. Bahan-bahan untuk metode buku histologi pemeriksaan jaringan

3.4.2. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- 3.4.2.1. Kandang-kandang mencit/kelompok menurut dosis
- 3.4.2.2. Alat-alat untuk transplantasi sel tumor pada mencit
- 3.4.2.3. Alat-alat untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan

3.5. CARA PENGUMPULAN DATA PENELITIAN

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pemeriksaan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Data tersebut diperoleh dari hasil pembacaan jumlah sebukan sel mononuklear sebanyak 5 lapangan pandang untuk setiap preparat pada masing-masing kelompok.

Dua puluh empat ekor mencit C3H diadaptasi di laboratorium dengan dikandangkan secara individual dan diberi ransum pakan standar selama 1 minggu secara *ad libitum*. Kemudian dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri atas 6 ekor mencit yang ditentukan secara acak. Masing-masing kelompok dikandangkan secara individual dan mendapatkan pakan standard yang sama dan minum *ad libitum*.

Pembagian kelompok perlakuan :

Kelompok Kontrol : diinokulasi bubur tumor

Kelompok I : diinokulasi bubur tumor, melalui masa laten hingga timbul benjolan kemudian diberi ekstrak rimpang *Curcuma alba* dengan dosis 8 mg/hari selama 3 minggu

Kelompok II : diinokulasi bubur tumor, melalui masa laten hingga timbul benjolan kemudian diberi ekstrak rimpang *Curcuma alba* dengan dosis 16 mg/hari selama 3 minggu

Kelompok III : diinokulasi bubur tumor, melalui masa laten hingga timbul benjolan kemudian diberi

ekstrak rimpang *Curcuma alba* dengan dosis 32 mg/hari selama 3 minggu

Pembedahan mencit dilakukan setelah perlakuan selesai. Pengambilan jaringan kanker payudara dilakukan setelah mencit dibedah. Mencit dianastesi dengan eter, lalu dibunuh dengan cara dislokasi tulang leher. Kemudian jaringan kanker tersebut dimasukkan dalam botol berisi *buffer formalin* 10%. Setelah itu, dehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat, lalu dibuat blok paraffin sesuai standar baku histologi. Blok paraffin ini kemudian dipotong dengan mikrotom dan dibuat preparat pada obyek gelas selanjutnya diwarnai dengan hematoksilin Eosin. Masing-masing dibuat 2 preparat untuk setiap mencit pada setiap kelompok. Preparat yang sudah jadi dibaca hasilnya dengan mikroskop cahaya. Pembacaan dan penilaian jumlah sebukan sel mononuklear dilakukan pada 5 lapangan pandang (4 di sudut dan 1 di tengah) dengan pembesaran 400x untuk tiap preparat pada masing-masing kelompok. Setelah itu, penilaian jumlah sebukan sel mononuklear di sekitar jaringan kanker menurut sarjadi (Sarjadi, 2001).

3.6. TEMPAT DAN WAKTU

3.6.1 Tempat

Tempat penelitian dan perlakuan pada hewan coba, pembuatan preparat dan analisa sebukan sel mononuklear payudara bertempat di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia selama 21 hari.

Tempat pembuatan ekstrak *Curcuma alba* di Fakultas MIPA Universitas Diponegoro selama 3-5 hari.

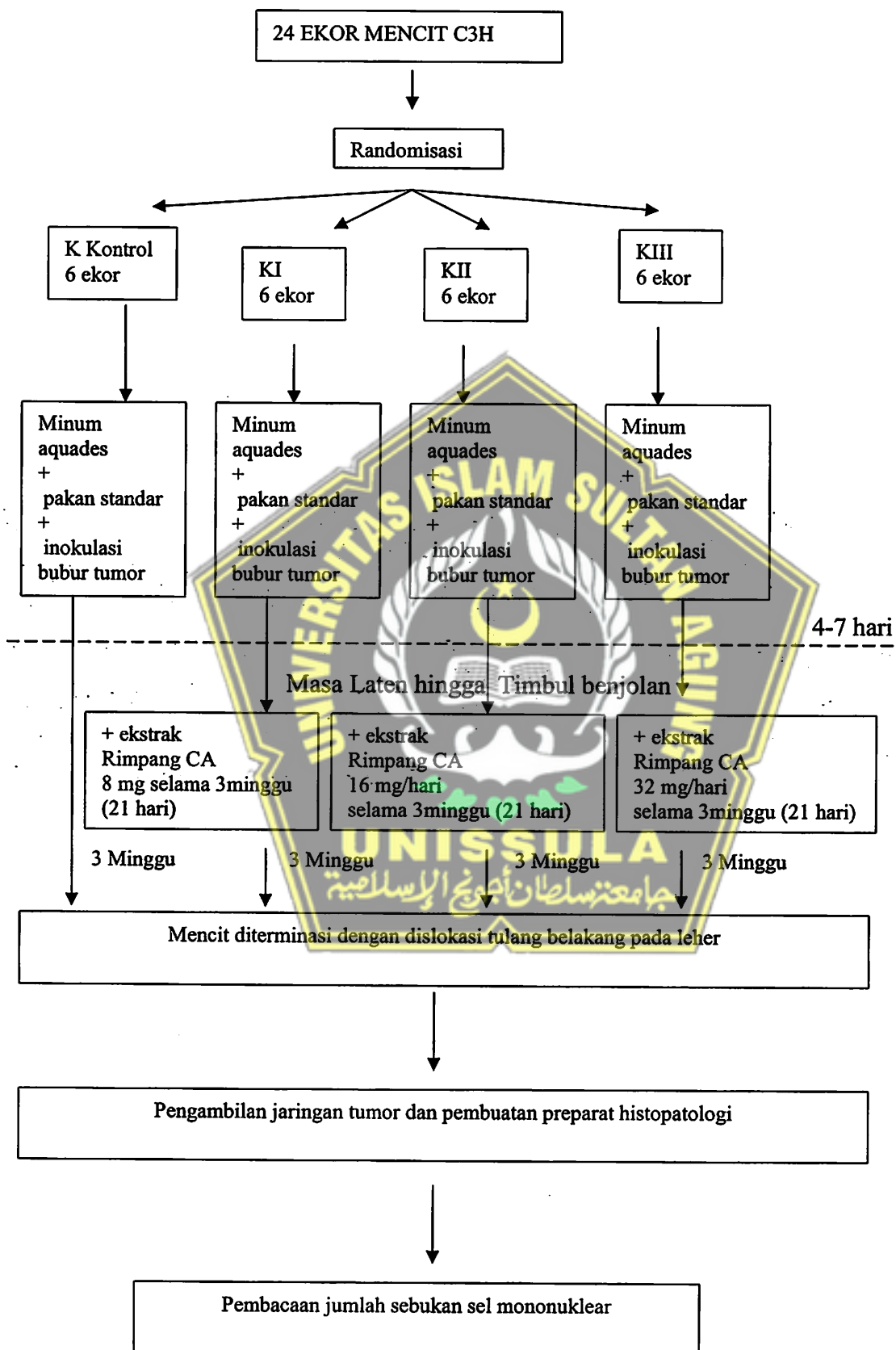
3.6.2 Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan November – Desember 2010.

3.7. ANALISIS HASIL PENELITIAN

Pengumpulan data dilakukan dengan pemeriksaan histopatologi secara mikroskopis, untuk mengetahui jumlah sebukan sel monuklear pada sel kanker payudara. Data yang diperoleh untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kunir putih (*Curcuma alba*) terhadap sebukan sel mononuklear pada sel kanker payudara pada mencit betina strain C3H. Terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dengan *shapiro-wilk* dan uji homogenitas dengan *levene statistic* sebagai syarat dilakukan uji anova satu arah atau *One Way Anova*. Oleh karena syarat *uji anova* tidak terpenuhi, dengan data tidak berdistribusi normal tetapi homogen tidak dapat dilakukan *uji Anova* yang kemudian dilakukan *uji Kruskal-Wallis*. Hasil dari *uji Kruskal-Wallis* dari hasil data terjadi perbedaan bermakna yaitu $< 0,05$ yang dilanjutkan dengan *uji Mann-Whitney*.

3.8. ALUR PENELITIAN



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 HASIL PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan sampel 24 ekor mencit CH3, strain C3H yang sehat, jenis kelamin betina dengan rata-rata usia 6 bulan, berat badan 20-30 gram. Kemudian dilakukan simple random dan dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit. Selama perlakuan semua tikus pada masing-masing kelompok tidak ada tikus yang mati. Pemberian perlakuan diberikan selama 21 hari dan pada hari ke 22 diterminasi dengan Adenokarsinoma Mamma. Setelah itu dibuat preparat dan hasilnya dilihat dengan mikroskop dengan menilai jumlah sebukan mononuklear yang ada. Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan penelitian *post test only control group design*. Hasil pembacaan preparat dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1. Hasil rata-rata jumlah sebukan mononuklear pada kelompok uji Kontrol, I, II, III

Ket	Kontrol	K1	K2	K3
Mean	0,40	0,40	1,03	1,27
SD	0,38	0,40	0,19	0,35

Keterangan :

Kelompok Kontrol : Inokulasi bubur tumor

Kelompok I : Inokulasi bubur tumor + ekstrak rimpang *Curcuma alba* 8 mg/hari

Kelompok II : Inokulasi bubur tumor + ekstrak rimpang *Curcuma alba* 16 mg/hari

Kelompok III : Inokulasi bubur tumor + ekstrak rimpang *Curcuma alba* 32 mg/hari

Tabel 4.2 Hasil uji Normalitas kelompok kontrol, I, II dan III dengan menggunakan uji Saphiro Wilk

Kelompok	Sig.
Kontrol	0,466*
K I	0,001
K II	0,031*
K III	0,059*

Ket : * bermakna

Kemudian dilakukan uji normalitas dengan uji *Saphiro Wilk*, sebaran data pada K I tidak normal, hal ini ditunjukkan oleh nilai signifikansi pada kelompok I dengan $p < 0,05$ sehingga sebaran data tidak normal.

Setelah uji normalitas, kemudian dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene test*, sebaran data antar kelompok homogen, hal ini ditunjukkan dengan hasil semua kelompok $p > 0,05$. Walaupun uji homogenitas terpenuhi (normal) namun sebaran data tidak normal sehingga tidak dapat dilakukan uji *One Way Anova*. Kemudian dapat diteruskan dengan uji *Kruskall Wallis*.

Pada uji *Kruskall Wallis* diperoleh probability sebesar 0,005 ($p < 0,05$) sehingga minimal ada satu pasang kelompok yang berbeda signifikan. Untuk mengetahui sepasang kelompok mana yang signifikan, dilakukan uji *Mann Whitney*.

Tabel 4.3 Hasil Uji Mann Whitney

Kelompok	Asymp. Sig.
Kelompok kontrol dan I	0,869
Kelompok kontrol dan II	0,012*
Kelompok kontrol dan III	0,007*
Kelompok I dan II	0,031*
Kelompok I dan III	0,017*
Kelompok II dan III	0.153

Ket : * bermakna

Pada uji *Mann Whitney* antara pasangan kelompok kontrol dengan kelompok I diperoleh probability sebesar 0,869 ($p > 0,05$), sehingga antara kelompok kontrol

dan kelompok I tidak terdapat perbedaan jumlah sebukan sel mononuklear secara signifikan.

Pada uji *Mann Whitney* antara pasangan kelompok kontrol dengan kelompok II diperoleh probability sebesar 0,012 ($p < 0,05$), sehingga antara kelompok kontrol dan kelompok II terdapat perbedaan jumlah sebukan sel mononuklear secara signifikan.

Pada uji *Mann Whitney* antara pasangan kelompok kontrol dengan kelompok III diperoleh probability sebesar 0,007 ($p < 0,05$), sehingga antara kelompok kontrol dan kelompok III terdapat perbedaan jumlah sebukan sel mononuklear secara signifikan.

Pada uji *Mann Whitney* antara pasangan kelompok I dengan kelompok II diperoleh probability sebesar 0,031 ($p < 0,05$), sehingga antara kelompok I dan kelompok II terdapat perbedaan jumlah sebukan sel mononuklear secara signifikan.

Pada uji *Mann Whitney* antara pasangan kelompok I dengan kelompok III diperoleh probability sebesar 0,017 ($p < 0,05$), sehingga antara kelompok I dan kelompok III terdapat perbedaan jumlah sebukan sel mononuklear secara signifikan.

Pada uji *Mann Whitney* antara pasangan kelompok II dengan kelompok III diperoleh probability sebesar 0,153 ($p > 0,05$), sehingga antara kelompok II dan kelompok III tidak terdapat perbedaan jumlah sebukan sel mononuklear secara signifikan.

4.2 PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan bahwa ekstrak rimpang kunir putih (*Curcuma alba*) berpengaruh terhadap sebaran sel mononuklear pada Adenokarsinoma Mamma. Hal ini terbukti ada perbedaan secara signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok II (ekstrak rimpang *Curcuma alba* 16 mg/hari) dan kelompok III (ekstrak rimpang *Curcuma alba* 32 mg/hari). Selain itu, kelompok I (ekstrak rimpang *Curcuma alba* 8 mg/hari) dengan kelompok II (ekstrak rimpang *Curcuma alba* 16 mg/hari) dan kelompok III (ekstrak rimpang *Curcuma alba* 32 mg/hari) juga ada perbedaan signifikan. Sesuai dengan perlakuan, pada kelompok kontrol yang tidak diberikan ekstrak *Curcuma alba* mempunyai jumlah sebaran sel mononuklear yang paling sedikit. Hal ini menunjukkan kelompok kontrol dan kelompok I tidak ada pengaruh, sedangkan kelompok kontrol dengan kelompok II dan kelompok III ada pengaruh tetapi dengan pengaruh yang sama diantara 2 kelompok tersebut.

Beberapa bukti yang mendukung bahwa ada peran sistem imun dalam melawan tumor ganas diperoleh dari beberapa penelitian, di antaranya yang mendukung teori itu adalah banyak tumor mengandung infiltrasi sel-sel mononuklear yang terdiri dari sel T, sel NK, dan makrofag (Kresno, 2007). Pada neoplasma infiltrasi sel mononuklear merupakan indikator untuk prognosis yang baik (Baratawidjaya, 2004). Hal ini terbukti bahwa pemberian ekstrak kelompok II dan kelompok III mempunyai jumlah sel mononuklear yang banyak sehingga mempunyai prognosis yang baik.

Berdasarkan data diatas menunjukkan kelompok II dan III sebaran sel mononuklear mempunyai pengaruh terhadap penambahan jumlah sebaran sel mononuklear, tetapi dosis yang paling efektif adalah dosis 16 mg ekstrak rimpang

kunir putih karena efek samping kunir putih tidak diketahui dan tidak ada perbedaan pengaruh yang bermakna antara pemberian dosis antara 16 mg dan 32 mg. Kunir putih bermanfaat untuk menyembuhkan luka akibat kanker dan tumor (Mangan, 2009). Setelah dilakukan penelitian ini, ternyata ekstrak kunir putih berguna untuk memperbaiki prognosis pada insidensi kanker payudara. Dan masyarakat dapat memanfaatkan ekstrak rimpang kunir putih sebagai obat alternatif atau obat herbal.

Ada zat aktif lain selain *curcumin* pada *Curcuma alba* yang dapat mempengaruhi sel kanker payudara. *Curcuma alba* mengandung protein toksis sejenis *Ribosome Inactivating Protein* (RIP). Protein ini mampu menonaktifkan ribosom sehingga sintesis protein dalam sel terganggu. Protein tersebut mudah melakukan penetrasi ke dalam sel sehat, sehingga sel kanker tidak dapat berkembang biak. Sifat RIP ini adalah menghambat perkembangan sel kanker sekaligus mencegah kerusakan gen, salah satu penyebab timbulnya kanker (Sadewo, 2007). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai keefektifan dari RIP terhadap histopatologis sel kanker payudara.

Ada beberapa hal yang mempengaruhi prognosis sel kanker payudara selain sebaran sel mononuklear seperti diferensiasi, proliferasi, dan apoptosis. Sebagai contoh, kanker payudara berdiferensiasi sedang pada awal hidupnya memiliki prognosis baik, laju proliferasi yang tinggi berkaitan dengan prognosis yang lebih buruk pada kanker payudara, dan proses apoptosis yang sedikit berkaitan dengan prognosis yang buruk pula (Kumar, 2004). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian histopatologis lainnya seperti diferensiasi, proliferasi, dan apoptosis.

Penelitian terdahulu, kurkuma yang mengandung kurkumin mempunyai pengaruh untuk pengobatan perkembangan dan metastasis kanker payudara dengan standar dosis 6000 mg/hari pada manusia selama 3 minggu (Robert, 2009). Sedangkan perbedaan penelitian ini dengan terdahulu, untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kunir putih terhadap sebulan sel mononuklear pada Adenokarsinoma Mamma dengan standar dosis konversi dari manusia ke mencit.

Kendala dalam penelitian ini adalah iritasi yang terlalu dalam terjadi sewaktu inokulasi hingga menembus otot bisa mempercepat timbulnya kanker (Liebelt, 1976). Selain itu, pembacaan sebulan sel mononuklear oleh karena *human error* yang juga bisa mempengaruhi hasil penelitian.

Dalam melakukan penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan yaitu tidak bisa mengidentifikasi dan membedakan jenis sebulan sel mononuklear antara CTL, makrofag, atau NK sehingga tidak bisa mengetahui jenis sebulan sel mononuklear yang paling berpengaruh pada pemberian ekstrak kunir putih pada kanker payudara.



BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Dari uraian hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil simpulan sebagai berikut :

- 5.1.1. Ada pengaruh pemberian ekstrak rimpang *Curcuma alba* terhadap sebaran sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H pada berbagai tingkatan dosis.
- 5.1.2. Ada pengaruh sebaran sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H antara kelompok yang diberi ekstrak rimpang *Curcuma alba* dengan kelompok yang tidak diberi.
- 5.1.3. Ada pengaruh sebaran sel mononuklear di sekitar jaringan Adenokarsinoma Mamma mencit C3H yang diberi ekstrak rimpang *Curcuma alba* antara masing-masing kelompok dosis.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian diatas :

- 5.2.1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan menilai CTL, makrofag, atau NK untuk mengetahui sebaran sel mononuklear yang paling berpengaruh
- 5.2.2. Perlu dilakukan penelitian kunir putih terhadap histopatologi kanker payudara meliputi diferensiasi, apoptosis, dan volume sel
- 5.2.3. Perlu dilakukan penelitian zat aktif lain selain kurkumin pada kandungan kunir putih yang mungkin berpengaruh terhadap histopatologis sel kanker payudara misalnya RIP
- 5.2.4. Perlu dilakukan penelitian efek samping kunir putih pada berbagai tingkatan dosis tertentu

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK., Lichtman AH, 2007, *Cellular and Molecular Immunology, Sixth Edition*, Elsevier Saunders, Philadelphia, 105-200
- Baratawidjaya G, K., 2004, *Imunologi Dasar*, Gaya Baru, Jakarta, 366-368
- Dahlan, MS., 2001, *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*, Ed.1, PT Arkans, 87
- Fuchs JR, Pandit B, Bhasin D., 2009., *Structure-activity relationship studies of curcumin analogues*, Jurnal ebscohost, Dikutip tanggal 21-09-2010
- Halim B, Sahil F., 2001, *Imunologi Kanker*, Cermin Dunia Kedokteran, 47-51
- Henderson, IC., Kanker payudara, Dalam : Fauci AS, Braundwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kassper DL, etal, editor, 2000, *Harrison prinsip-prinsip ilmu penyakit dalam*, ED 13, Alih bahasa : Asdie AH, EGC, Jakarta, 45-46
- Henry, R., 2007, *The Breast Cancer*, Desert Wave Entreprise, Australia, 83-85
- Indah, N., 2010, <http://nusaindah.tripod.com/kunirputih.htm>, Dikutip 09-02-2011
- Jagetia GC, Aggarwal BB., 2007, "Spicing up" of The Immune System by Curcumin, Jurnal ebscohost, Dikutip 21-09-2010
- Kathleen, BH., Gangguan sistem reproduksi wanita, Dalam : Price SA, Wilson LM, editor, 2005, *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit*, Alih bahasa : dr.Brahm U,dkk., EGC , Jakarta, 1303-1307
- Kresno B, S., 2007, *Imunology : Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*, Ed.4, Gaya Baru, Jakarta, 208-224
- Kumar V, Ramzi SC, Stanley LR., 2004, *Robbins Buku Ajar Patologi*, Ed7, Alih bahasa : dr.Brahm U.Pendit, EGC, Jakarta, 794-801
- Liebelt, AG., 1974, *JNatl.Cancer Instrument*, Springfield, Illionis , 142-245
- Mangan, Y., 2009, *Solusi Sehat Mencegah & Mengatasi Kanker*, Agromedia : Jakarta, 38-39
- Mardiana, L., 2009, *Mencegah dan mengobati kanker pada wanita dengan tanaman obat*, Swadaya, Jakarta, 59
- Michael K, Stella P., 2006, *The Moleculer Biology of Cancer*, Blackwell Publishing, England, 216-220

- Robert M, B., 2009, *Phase I dose escalation trial of docetaxel plus curcumin in patients with advanced and metastatic breast cancer*, Jurnal Ebscohost, Dikutip 21-09-2010
- Sadewo, B., 2007, *Tanaman obat populer*, Agromedia, Jakarta, 33-35
- Sarjadi, *Karsinoma epidermoid serviks uterus (Beberapa aspek epidemiologi serta peran histopatologi dan petanda tumor dalam penentuan prognosis)*, Disertasi Doctor.Semarang : Universitas Diponegoro, 11985 : 30.
- Sarjadi, Padmi T, Pawitra I., 2001, *Insiden Kanker Penduduk Semarang Tahun 1990-1999*, Media Medika Indonesia, 15-21
- Somasundaram S, Edmund NA, Moore DT., 2002, *Dietary curcumin inhibits chemotherapy-induced apoptosis in models of human breast cancer*, *Cancer Research*, Vol. 62, July 1, pp. 3868-75
- The Jackson laboratory., 2009, <http://jaxmice.jax.org/strain/000659.html>, Dikutip 21-09-2010
- WHO, 2006; Breast Cancer, www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index, Dikutip 2009-03-26

