

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEMULAWAK TERHADAP
TINGKAT DIFERENSIASI JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMAE**

Studi terhadap Mencit C3H yang Diinokulasi Jaringan Tumor

Karya Tulis Ilmiah
untuk memenuhi sebagai persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



oleh
Adhe Kurniawan
012075338

FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG

2011

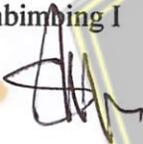
KARYA TULIS ILMIAH
PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEMULAWAK TERHADAP
TINGKAT DIFERENSIASI JARINGAN ADENOKARSINOMA MAMMAE
Studi terhadap Mencit C3H yang Diinokulasi Jaringan Tumor

yang dipersiapkan dan disusun oleh
Adhe Kurniawan
012075338

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal Maret 2011
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I



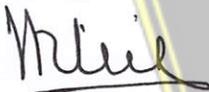
dr. H. Sumarno, M.Si.Med, Sp.PA

Anggota Tim Penguji

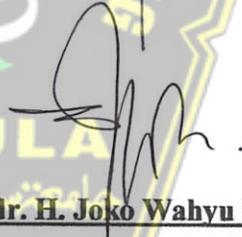


dr. Hj. Chodidjah, M.Kes

Pembimbing II



Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes

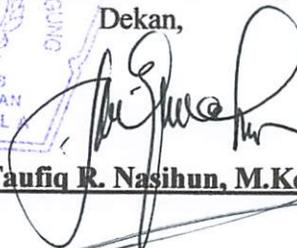


dr. H. Joko Wahyu W., M.Kes



Semarang, Maret 2011

Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



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

PRAKATA

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas semua anugerah dan rahmatNya sehingga Karya Tulis Ilmiah dengan judul "Pengaruh Pemberian Ekstrak Temulawak terhadap Tingkat Diferensiasi Jaringan Adenokarsinoma Mammae Studi terhadap Mencit C3H yang Diinokulasi Jaringan Tumor" ini dapat terselesaikan.

Karya Tulis Ilmiah 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. H. Sumarno M.Si.Med, Sp.PA dan Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes 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. Hj. Chodidjah, M.Kes dan dr. H. Joko Wahyu W., M.Kes selaku dosen Penguji I dan II yang telah dengan sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Dra. Puspita Eka Wuyung, MS dan Bp. Slamet Hartono selaku staf Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.
5. Kedua orang tuaku yang tercinta, Bapak Ali Akhmadi dan Ibu S. Yuniati H. atas semua dukungan dan doanya.
6. Sdr. Ilham Anggito Aji, Sdr. Nugroho Akbar, Sdr. Ahmad Alfianto, Sdr. Adi Sakti S. dan teman-teman mahasiswa FK UNISSULA lainnya atas semua dukungan dan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

Akhir kata, penulis hanya bisa berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Semarang, Maret 2011

Penulis



DAFTAR ISI

JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PRAKATA.....	iii
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR SINGKATAN.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Karakteristik Kanker.....	5
2.2 Kanker Payudara.....	8
2.3 Siklus Sel.....	11
2.4 Karsinogenesis.....	15
2.5 Temulawak.....	19

2.6 Pengaruh Kurkuminoid terhadap Karsinogenesis.....	22
2.7 Model Kanker pada Mencit.....	22
2.8 Kerangka Teori.....	25
2.9 Kerangka Konsep.....	26
2.10 Hipotesis.....	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	27
3.2 Variabel dan Definisi Operasional.....	27
3.2.1 Variabel.....	27
3.2.2 Definisi Operasional.....	27
3.3 Populasi dan Sampel.....	30
3.3.1 Populasi.....	30
3.3.2 Sampel.....	30
3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian.....	31
3.4.1 Instrumen.....	31
3.4.2 Bahan Penelitian.....	32
3.5 Cara Penelitian.....	33
3.5.1 Cara Perlakuan.....	33
3.5.2 Cara Pembuatan Ekstrak Temulawak.....	36
3.5.3 Cara Inokulasi Jaringan Tumor.....	37
3.5.4 Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi.....	38
3.6 Tempat dan Waktu.....	40
3.6.1 Tempat Penelitian.....	40

3.6.2 Waktu Penelitian.....	40
3.7 Analisis Hasil.....	40
3.8 Alur Penelitian.....	41
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1 Hasil Penelitian.....	42
4.2 Pembahasan.....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	53



DAFTAR SINGKATAN

AP-1	: <i>activating protein-1</i>
APC	: <i>antigen-presenting cells</i>
ATM	: <i>ataxia telangiectasia mutated</i>
BRCA	: <i>breast cancer</i>
CAK	: <i>CDK-activating kinase</i>
CDK	: <i>cyclin-dependent kinase</i>
CKI	: <i>CDK inhibitor</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
ERK	: <i>extracellular signal-regulated kinase</i>
GAP	: <i>GTPase-activating protein</i>
GDP	: <i>guanosine diphosphate</i>
GTP	: <i>guanosine triphosphate</i>
GTPase	: <i>guanosine triphosphatase</i>
IFN- γ	: <i>interferon-γ</i>
IGF-1	: <i>insulin-like growth factor 1</i>
I κ B α	: <i>inhibitor of NF-κB-α</i>
IKK- β	: <i>IκB kinase-β</i>
JNK	: <i>c-Jun n-terminal kinase</i>
MAPK	: <i>mitogen-activated protein kinase</i>
MEK	: <i>MAPK/ERK kinase</i>

MKK : *MAPK kinase*

NEMO : *NF- κ B essential modulator*

NF- κ B : *nuclear factor kappa B*

OR : *origin of replication*

ORC : *origin recognition complex*

PDGF : *platelet-derived growth factor*

PI3K : *phosphatidylinositol-3-kinase*

RIP : *receptor interacting protein*

RTK : *receptor tyrosine kinase*

TNF- α : *tumor necrosis factor- α .*

TNFR : *TNF receptor*

TNM : *tumor nodule metastase*

TRADD : *TNF receptor-associated death domain*

TRAF : *TNF receptor-associated factor*



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1. Tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.....	43
---	----



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil analisis statistik.....	53
Lampiran 2. Foto inokulasi jaringan tumor dan hasil makroskopik.....	55
Lampiran 3. Foto preparat histopatologi kelompok kontrol.....	59
Lampiran 4. Foto preparat histopatologi kelompok perlakuan 3.....	62



INTISARI

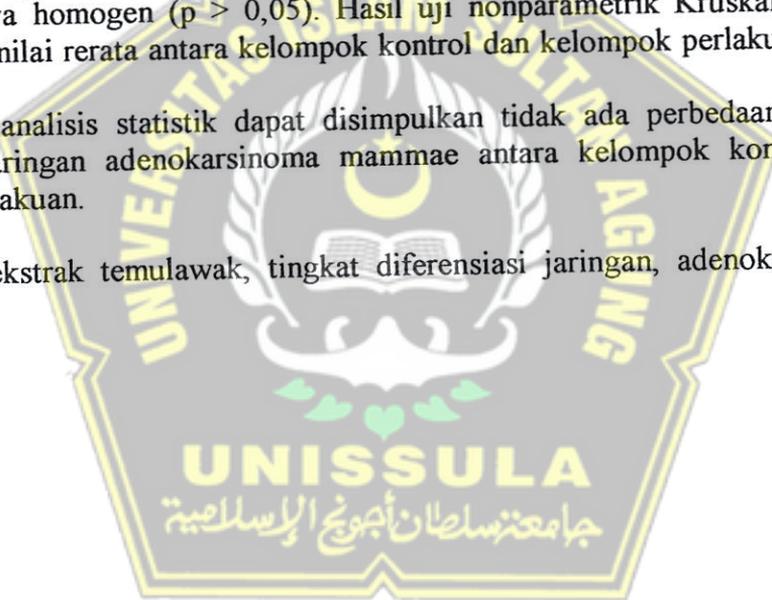
Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang sering menyebabkan kematian, kanker ini banyak diderita oleh wanita. Pengobatan kanker payudara menggunakan obat kemoterapi dapat menimbulkan efek samping yang serius. Obat herbal dapat menjadi alternatif pengobatan kanker. Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) adalah tanaman obat yang terbukti mempunyai potensi antikanker. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak temulawak terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design* ini menggunakan 24 mencit C3H bertumor dibagi dalam kelompok kontrol (K) tidak mendapat ekstrak temulawak; kelompok perlakuan 1 (P1) mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 0,82 mg/hari; kelompok perlakuan 2 (P2) mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 1,64 mg/hari; dan kelompok perlakuan 3 (P3) mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 3,28 mg/hari secara acak.

Data yang diperoleh mempunyai distribusi yang tidak normal ($p < 0,05$) dan varians datanya homogen ($p > 0,05$). Hasil uji nonparametrik Kruskal Wallis menunjukkan nilai rerata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sama ($p > 0,05$).

Dari hasil analisis statistik dapat disimpulkan tidak ada perbedaan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Kata kunci: ekstrak temulawak, tingkat diferensiasi jaringan, adenokarsinoma mammae



BABI

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan penyakit keganasan yang sering menyebabkan kematian pada wanita di seluruh dunia. Sejak 25 tahun yang lalu, angka insiden kanker payudara meningkat secara global terutama di negara-negara barat (Swart *et al.*, 2009). Kasus kanker payudara menempati urutan pertama dari seluruh kasus kanker yang ditemukan di Jawa Tengah yaitu sebanyak 14.019 kasus (51,68%). Prevalensi tertinggi terdapat di Kota Surakarta sebesar 0,28% (Profil Kesehatan Propinsi Jawa Tengah, 2008).

Kanker payudara sering ditemukan pada wanita, hampir satu diantara empat diagnosis kanker pada wanita di Amerika Serikat. Pada tahun 2009, perkiraan kasus baru kanker payudara mencapai 192.370 kasus pada wanita, jumlah ini belum termasuk kasus baru kanker payudara *in situ* yang mencapai 62.280 kasus. Jumlah kematian yang disebabkan kanker payudara mencapai 40.170 di Amerika Serikat (*American Cancer Society*, 2009). Pada umumnya kanker payudara diawali oleh perubahan genetik yang terjadi akibat mutasi-mutasi spontan terutama pada sel epitel yang melapisi duktus dan lobulus kelenjar mammae (Arrick, 2008). Perubahan genetik tersebut menimbulkan kekacauan dalam pengaturan pertumbuhan, sehingga menghasilkan massa jaringan abnormal yang tumbuh terus-menerus dan tidak terkoordinasi,

kehilangan kemampuan untuk berdiferensiasi (anaplasia), serta memiliki kemampuan untuk bermetastasis (Ruddon, 2007). Diferensiasi sel sendiri merupakan karakteristik khusus dari pertumbuhan sel yang menunjukkan perubahan ciri fisik dan fungsional suatu sel untuk membentuk struktur sel dewasa yang berbeda. Pada jaringan kanker dapat ditemukan sel-sel yang tidak berdiferensiasi, sel tersebut kehilangan struktur dan fungsi sel normal (Stricker dan Kumar, 2007).

Saat ini, reseksi bedah masih menjadi terapi standar, tetapi harus dilanjutkan dengan terapi radiasi dan pemberian kemoterapi adjuvan (Giuliano, 2006). Obat kemoterapi yang ada sekarang tidak menekan proliferasi sel kanker secara selektif, tetapi juga mengganggu proliferasi sel normal terutama pada sistem hematopoietik dan sistem gastrointestinal (Nafrialdi dan Gan, 2003). Penggunaan kemoterapi dapat menimbulkan efek samping antara lain infeksi, perdarahan, dehidrasi, keluhan gastrointestinal, anemia, trombosis, emboli paru, dan malnutrisi. Efek samping tersebut membutuhkan perawatan yang intensif di rumah sakit, karena bila tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan kematian (Hassett *et al.*, 2006). Obat herbal dapat menjadi alternatif pengobatan bagi penderita kanker payudara karena telah terbukti pada uji preklinik dan efek samping yang relatif sedikit dibandingkan dengan obat modern (Ulbricht, 2010).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman asli Indonesia dan termasuk salah satu jenis rimpang yang banyak digunakan sebagai bahan baku obat tradisional. Kandungan terbesar temulawak adalah

fraksi pati yang terdiri dari protein, lemak, karbohidrat, serat, kurkuminoid, dan minyak atsiri (Dalimartha, 2004). Senyawa kurkuminoid seperti kurkumin diketahui mempunyai potensi sebagai antikanker. Hal ini ditunjukkan dengan kemampuan kurkumin dalam meningkatkan ekspresi protein p53 pada sel kanker payudara, protein ini berfungsi dalam penghentian siklus sel. Kurkumin juga mampu meningkatkan ekspresi Bax yang merupakan anggota keluarga Bcl-2 yang bersifat proapoptosis (Choudhuri *et al.*, 2002). Pada uji sitotoksitas, ekstrak temulawak terbukti mampu menghambat proliferasi sel hepatoma dan sel kanker payudara (Handayani *et al.*, 2007; Cheah *et al.*, 2008). Berdasarkan penjelasan di atas, penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak temulawak terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak temulawak berpengaruh terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak temulawak terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

1.3.2 Tujuan Khusus

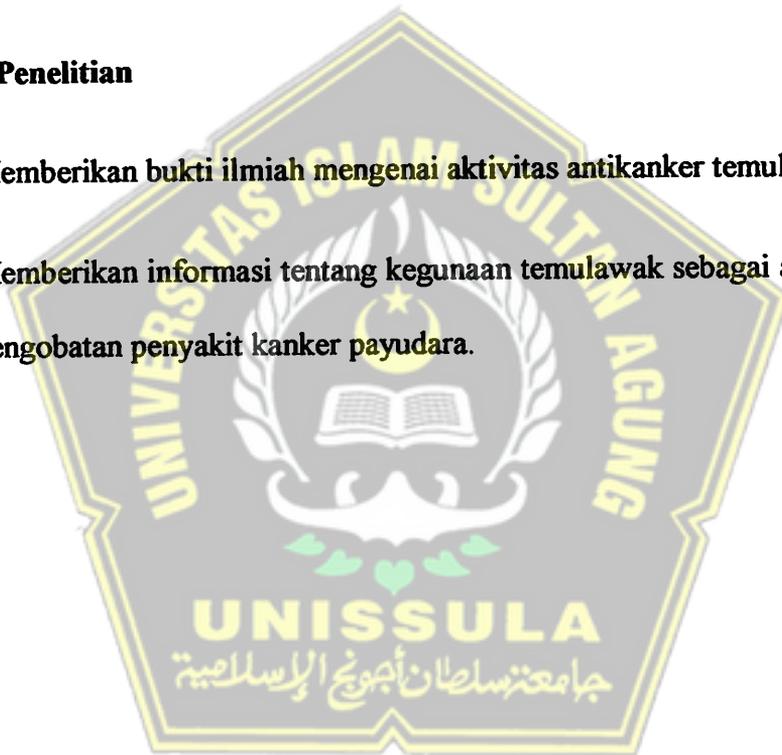
1.3.2.1 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak temulawak dengan berbagai dosis (0,82; 1,64; dan 3,28 mg/hari) terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

1.3.2.2 Membandingkan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Memberikan bukti ilmiah mengenai aktivitas antikanker temulawak.

1.4.2 Memberikan informasi tentang kegunaan temulawak sebagai alternatif pengobatan penyakit kanker payudara.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik Kanker

Pertumbuhan sel normal dikendalikan secara cermat oleh keseimbangan antara sinyal yang memicu pertumbuhan dan menghambat pertumbuhan. Pengaturan pertumbuhan dan proliferasi sel ini dilakukan oleh sejumlah gen antara lain protoonkogen, gen penekan tumor, dan gen perbaikan DNA. Suatu sel yang bermutasi pada gen-gen tersebut akan mengalami instabilitas genom, sehingga pada sel tersebut terjadi aktivitas proliferasi yang terus-menerus, kehilangan kemampuan untuk berdiferensiasi, dan proses kematian sel terprogram menjadi tidak aktif. Mutasi awal pada sel tersebut akan membentuk tumor dengan klon yang homogen, selanjutnya mutasi-mutasi tambahan akan membentuk subklon-subklon baru dengan sifat yang heterogen dan pada akhirnya tumor tersebut berubah menjadi kanker (Macdonald *et al.*, 2004).

Kanker merupakan penyakit genetik yang didapat, perubahan-perubahan genetik spontan pada mekanisme yang menjaga homeostasis selular, mengakibatkan pengendalian pembelahan dan kematian sel terganggu, serta mengubah fenotif sel menjadi ganas (Moscow dan Cowan, 2007). Ciri yang membedakan neoplasma ganas dari neoplasma jinak yakni kemampuan untuk menginvasi dan menghancurkan jaringan normal di dekatnya, bermetastasis

melalui pembuluh limfe atau pembuluh darah menuju kelenjar limfe dan jaringan lain dalam tubuh, sel neoplasma ganas cenderung anaplastik atau berdiferensiasi buruk dibandingkan sel normal dari jaringan asalnya, dan neoplasma ganas biasanya tumbuh lebih cepat dibandingkan neoplasma jinak. Kebanyakan kanker tumbuh membesar secara progresif dan tingkat pertumbuhannya berkorelasi dengan tingkat diferensiasi, dimana semakin cepat tumbuh semakin buruk diferensiasinya (Ruddon, 2007).

Salah satu ciri fundamental yang dapat digunakan untuk membedakan antara neoplasma jinak dan ganas adalah diferensiasi sel parenkim yang merupakan elemen neoplasma yang mengalami transformasi. Diferensiasi sel parenkim menunjukkan seberapa jauh sel ini menyerupai sel dewasa normal baik secara morfologi maupun fungsional. Neoplasma ganas terdiri atas sel-sel yang tidak terdiferensiasi yang dinamakan anaplastik, sel tersebut kehilangan struktur dan fungsi sel normal. Dengan kata lain, anaplasia merupakan kekacauan yang terberat dalam pertumbuhan sel yang ditemui pada spektrum proliferasi sel. Neoplasma yang tumbuh lebih cepat dan lebih anaplastik, kecil kemungkinan sel parenkimnya mempunyai aktivitas fungsional yang terspesialisasi (Stricker dan Kumar, 2007).

Sel anaplastik memperlihatkan *pleomorphism* yang jelas yakni variasi dalam ukuran dan bentuk. Secara khas nukleusnya hiperkromatik yakni terwarnai gelap dan besar. Rasio nukleus terhadap sitoplasma dapat mencapai 1:1 dari rasio normalnya yaitu 1:4 atau 1:6. Terdapat sel raksasa yang lebih besar dibandingkan sel sekitarnya dan memiliki nukleus yang sangat besar

bahkan beberapa nukleus. Nukleus sel anaplastik bervariasi serta ukuran dan bentuknya aneh. Kromatin kasar dan bergumpal serta ukuran nukleolusnya aneh. Gambaran mitosis banyak ditemukan dan secara jelas atipikal, kumparan multipel mungkin terlihat dan tampak sebagai bentuk tripolar atau quadripolar. Sel anaplastik biasanya juga gagal mengembangkan pola orientasi antara satu sel dengan sel yang lain atau kehilangan polaritas normal (Stricker dan Kumar, 2007).

Kriteria sitologi yang serupa juga dikemukakan oleh Ruddon (2007) untuk menegakkan diagnosis atau paling tidak mencurigai adanya kanker yakni morfologi sel kanker berbeda dari sel normal pada jaringan asalnya, sel kanker lebih bervariasi dalam ukuran dan bentuk; nukleus sel kanker lebih besar dan kromatin lebih jelas (hiperkromatik), rasio nukleus banding sitoplasma tinggi, dan dalam nukleus sel kanker terdapat nukleolus yang besar dan menonjol; jumlah sel yang mengalami mitosis biasanya besar dalam populasi sel kanker dibandingkan populasi sel normal, 20 atau lebih gambaran mitosis per 1000 sel merupakan hal yang wajar pada jaringan kanker; sel raksasa dengan nukleus yang besar, pleomorfik, dan multipel sering ditemukan pada jaringan kanker; dan bukti jelas invasi jaringan kanker terhadap jaringan normal mungkin terlihat, yang mengindikasikan kanker telah menjadi invasif dan bermetastasis.

2.2 Kanker Payudara

Kanker payudara berasal dari proliferasi maligna sel epitel yang melapisi duktus dan lobulus kelenjar payudara. Kanker ini merupakan penyakit klonal karena berasal dari sel tunggal yang mengalami transformasi disebabkan oleh sejumlah mutasi baik yang didapat maupun diturunkan dan memiliki potensi keganasan (Lippman, 2008).

Kelenjar mammae yang normal mempunyai jaringan ikat yang melimpah dan elemen glandular. Lobulus glandular terdiri dari tubulus-tubulus kecil atau duktus intralobular yang dilapisi oleh epitel kuboid dan kolumnar, pada dasar epitel terdapat sel mioepitel kontraktile. Duktus interlobular mengelilingi lobulus dan duktus intralobular. Duktus intralobular dikelilingi oleh jaringan ikat intralobular longgar yang mengandung fibroblas, limfosit, sel plasma, dan eosinofil. Di sekitar lobulus terdapat jaringan ikat interlobular padat yang mengandung pembuluh darah, vena, dan arteriola. Kelenjar mammae terdiri atas 15-20 lobus yang masing-masing merupakan tipe kelenjar tubuloalveolar tunggal. Tiap lobus dipisahkan oleh jaringan ikat interlobus padat. Sebuah duktus laktiferus secara bebas muncul dari setiap lobus pada permukaan puting susu (Eroschenko, 2008).

Kanker payudara sebagian besar timbul dari epitel duktus kelenjar. Tumor pada mulanya menjalar dalam duktus, lalu menginvasi dinding duktus, ke arah anterior mengenai kulit, ke arah posterior mengenai otot pektoralis dan dinding toraks. Kanker payudara bermetastasis paling sering pada

kelenjar limfe aksilar dan kelenjar limfe mamaria interna. Metastasis di kedua kelenjar limfe tersebut dapat lebih lanjut bermetastasis ke kelenjar limfe supraklavikular. Sel kanker dapat masuk ke pembuluh darah menimbulkan metastasis hematogen pada paru, tulang, hati, pleura, dan adrenal (Mintian dan Yi, 2008).

Lesi pramaligna yang berisiko tinggi untuk berkembang menjadi karsinoma invasif disebut karsinoma in situ. Terdapat dua jenis karsinoma in situ yakni tipe duktal dan lobular. Pada karsinoma in situ duktal terjadi proliferasi sel dalam duktus, membentuk kumpulan sel yang menghasilkan gambaran lumen *punch-out* dan sel-sel tersebut terbatas membran basal. Pada karsinoma in situ lobular terjadi proliferasi sel-sel kecil dengan nukleus bulat hingga oval sehingga terjadi ekspansi lobulus. Kanker payudara terdapat beberapa tipe seperti karsinoma duktal invasif, karsinoma lobular invasif, dan tipe tambahan yakni koloid, medular, dan tubular. Ketiga tipe tambahan tersebut mempunyai prognosis yang lebih baik. Morfologi mikroskopik karsinoma duktal invasif bervariasi dari kelenjar neoplastik hingga lembaran-lembaran sel neoplastik, sedangkan pada karsinoma lobular invasif terdapat baris-baris tunggal sel neoplastik yang dikelilingi kelenjar nonneoplastik (Kemp *et al.*, 2008).

Etiologi kanker payudara masih belum jelas tetapi terdapat faktor risiko antara lain riwayat keluarga dan gen terkait karsinoma payudara yakni *BRCA-1* dan *BRCA-2*; riwayat reproduksi meliputi usia menarke dini, menopause lanjut dan siklus haid pendek, tidak menikah, partus pertama usia lebih dari

30 tahun, dan tidak menyusui; riwayat kelainan pada kelenjar payudara seperti kistadenoma mammae hiperplastik; paparan radiasi pengion; serta diet tinggi lemak dan kalori (Mintian dan Yi, 2008).

Diagnosis pasti kanker payudara ditegakkan dengan biopsi pada massa yang teraba atau tampak pada pemeriksaan mammografi. Penyelidikan secara menyeluruh harus segera dilakukan ketika didapatkan abnormalitas pada payudara dan diikuti hingga pasien dinyatakan sembuh. Secara umum direkomendasikan pemeriksaan mammografi sebagai bagian dari evaluasi pada semua wanita usia 30 tahun atau lebih dengan massa abnormal pada payudaranya, tujuan pemeriksaan ini untuk menilai sifat dari massa yang teraba dan menentukan apakah terdapat massa lain yang tersembunyi. Penentuan stadium kanker payudara menggunakan sistem TNM berdasarkan petunjuk dari *American Joint Committee on Cancer (AJCC)*. Angka harapan hidup sangat bervariasi dan berkorelasi dengan stadium tumor, berkisar dari 99% untuk stadium 0 hingga 14% untuk stadium IV (Cigler dan Ryan, 2008).

Pembedahan dipertimbangkan sebagai terapi primer untuk kanker payudara, sebagaimana banyak pasien dengan stadium awal dapat sembuh hanya dengan pembedahan. Tujuan dari pembedahan adalah mengangkat tumor primer dengan batas negatif untuk mengurangi risiko kekambuhan lokal dan memeriksa kelenjar limfe regional untuk menentukan stadium penyakit sebagai informasi prognosis. Terapi adjuvant ditujukan untuk mengobati metastasis mikro atau sel kanker yang berhasil melarikan diri dari

lesi primer atau kelenjar limfe regional menuju lokasi yang tidak diketahui (Swart *et al.*, 2009).

Tingkat diferensiasi merupakan salah satu indikator prognosis kanker payudara. Kebanyakan sistem penentuan tingkat diferensiasi tumor untuk kanker payudara mengkombinasikan tiga komponen yakni gambaran nukleus, formasi tubulus, dan laju mitosis. Di Eropa, modifikasi Elston-Ellis pada sistem penentuan tingkat diferensiasi menurut Scarff-Bloom-Richardson atau dikenal sebagai *Nottingham grading system* paling banyak digunakan, pada modifikasi ini menyediakan kriteria yang lebih objektif untuk tiga komponen dan secara spesifik ditujukan untuk penghitungan mitosis dalam pola yang lebih teliti. Modifikasi ini memperbesar reliabilitas penentuan tingkat diferensiasi kanker payudara di antara para klinisi (Cardiff dan Jensen, 2000).

2.3 Siklus Sel

Pusat dari proses proliferasi adalah regulasi mekanisme-mekanisme selular yang terlibat dalam pengendalian siklus sel. Aktivitas siklus sel melibatkan sejumlah kejadian di mana akan menghasilkan duplikasi DNA dan pembelahan sel. Siklus sel dibagi ke dalam empat fase yang berbeda. Interfase yang terdiri dari fase G1, fase replikasi DNA (S), dan fase G2 yakni periode dari akhir suatu pembelahan sel menuju pembelahan sel berikutnya. Selanjutnya, interfase akan diikuti oleh fase mitosis (M) (Macdonald *et al.*, 2004).

Pada sel terdapat jalur regulasi yang menentukan durasi dan urutan setiap fase dalam siklus sel. Jalur regulasi ini menjalankan sejumlah *checkpoint* pada setiap transisi fase siklus sel, sehingga sel tidak dapat melanjutkan siklus sebelum melengkapi seluruh proses yang diperlukan. Sel yang telah mengaktivasi enzim intraselular yang dikenal sebagai *cyclin-dependent kinase* (CDK) dapat melalui *checkpoint* dan memasuki fase selanjutnya. Sel yang keluar dari siklus sel berada pada fase G₀ atau *quiescent*. Proliferasi sel G₀ dapat dipicu dengan adanya faktor pertumbuhan dan nutrisi. Sel tersebut akan melakukan transisi dari fase G₀/G₁ menuju fase S, pada proses transisi ini terdapat dua *checkpoint* yakni *competence* dan *restriction point*. Setidaknya tiga faktor pertumbuhan yang dibutuhkan untuk melalui tahap *checkpoint* tersebut meliputi *platelet-derived growth factor* (PDGF), *epidermal growth factor* (EGF), dan *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) (Andreeff *et al.*, 2000).

Pengikatan faktor pertumbuhan pada domain ekstraselular *receptor tyrosine kinase* (RTK) akan menyebabkan autofosforilasi pada domain intraselular. Domain intraselular selanjutnya akan memfasilitasi pembentukan kompleks protein Grb2 dan Sos. Kompleks protein ini akan mengaktivasi bentuk aktif dari RAS yang terikat *guanosine triphosphate* (GTP). Protein RAS akan mengaktifkan dua jalur efektor yakni jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan jalur *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) (Sears dan Nevins, 2002). Aktivasi protein RAS hanya sebentar, karena adanya aktivitas *guanosine triphosphatase* (GTPase) yang menghidrolisis GTP menjadi *guanosine diphosphate* (GDP), melepaskan sebuah fosfat dan

mengembalikan protein RAS dalam keadaan inaktif. Aktivitas GTPase diperkuat oleh adanya *GTPase-activating protein* (GAP), di mana bertindak sebagai pengeblok aktivitas molekular, sehingga mencegah aktivasi protein RAS yang tidak terkontrol (Stricker dan Kumar, 2007).

Pada jalur MAPK terjadi aktivasi kinase protein meliputi RAF-1, *MAPK/ERK kinase* (MEK), dan *extracellular signal-regulated kinase* (ERK) secara berturut-turut. Kaskade kinase protein RAF-1/MEK/ERK mengatur ekspresi dari gen untuk menghasilkan protein pengatur proliferasi yaitu myc, jun, dan fos. Protein myc merupakan suatu protein yang mengikat DNA terlibat dalam pengontrolan ekspresi gen yang penting untuk proliferasi sel. Di antaranya gen yang mentranskripsi siklin D1/2, CDK4/6, dan fosfatase Cdc25A, suatu enzim yang mereaktivasi CDK yang tidak aktif. Selain itu protein myc juga menginduksi aktivitas dari siklin E/CDK2 yang penting untuk memulai fase S (Zhang dan Liu, 2002). Kelompok kinase lain yang terlibat pada jalur MAPK adalah *c-Jun n-terminal kinase* (JNK), protein ini mampu mengaktifkan faktor transkripsi *activating protein-1* (AP-1). AP-1 merupakan kelompok protein heterodimer yang terdiri atas keluarga jun (c-jun, junB, dan junD) dan keluarga fos (c-fos, fosB, fra-1, dan fra-2), faktor transkripsi ini berperan dalam proliferasi dan diferensiasi sel (Karsono, 2006).

Subunit siklin tipe D akan membentuk kompleks dengan subunit katalitik CDK4/6 dengan bantuan *CDK-activating kinase* (CAK). Pada *restriction point* terdapat kompleks protein penekan tumor Rb dengan faktor transkripsi

E2F yang mencegah sel memasuki fase S. Aktivasi siklin D/CDK4/6 akan memfosforilasi protein penekan tumor Rb, sehingga Rb akan kehilangan fungsinya, sedangkan faktor transkripsi E2F membentuk kompleks heterodimer dengan DP-1. Kompleks tersebut akan mengikat DNA pada lokasi yang spesifik dan mengaktifasi gen yang mentranskripsi enzim seperti polimerase, primase, helikase, ligase, dan topoisomerase serta protein seperti CDC-6p, Dbf-4p, CDC-7p, MCM-p, dan siklin E. Enzim dan protein tersebut diperlukan untuk memasuki fase S (Andreeff *et al.*, 2000; Sudiana, 2008).

Siklin E yang terbentuk akan membentuk kompleks dengan CDK2, kompleks ini berperan dalam perkembangan fase S. Siklin E/CDK2 mengaktifkan kompleks protein Dbf-4p/CDC-7p sehingga dapat menelusuri untaian DNA hingga menemukan area yang dikenal dengan *origin recognition complex* (ORC). Kemudian terjadi pelepasan CDC-7p dan pengikatan Dbf-4p pada ORC membentuk *origin of replication* (OR). Pada saat yang sama, protein CDC-6p menekan fosforilasi MCM-p sehingga memicu pembentukan gelembung replikasi (O). Dengan bantuan berbagai enzim meliputi polimerase, primase, dan helikase maka pada untaian DNA terbentuk *leading strand* dan *lagging strand* (*Okazaki fragment*). Selanjutnya enzim helikase dan girase akan membentuk dua untaian DNA baru. Setelah terjadi penggandaan DNA, diperlukan kompleks siklin B/CDK2 untuk menginduksi fase M. Pada fase inilah penggandaan sel terjadi melalui tahap profase, metafase, anafase, dan telofase (Sudiana, 2008).

Sel pada fase G1 mempunyai mekanisme penghentian siklus sel jika terdeteksi DNA nukleus mengalami kerusakan, hal yang sama terjadi bila kerusakan DNA terdeteksi pada fase G2. Mekanisme ini berfungsi untuk menjaga integritas genom, salah satu pengaturnya adalah gen penekan tumor *p53* yang dikenal sebagai *guardian of the genome*. Gen ini mentranskripsi protein *p53* yang merespon terhadap kerusakan DNA. Respon tersebut diawali dengan fosforilasi protein *p53* dan *mdm2* yang dimediasi *ataxia telangiectasia mutated (ATM)* dan *related ATR serine/threonine kinase*. Fosforilasi ini menyebabkan *p53* terlepas dari ikatan *mdm2* yang selanjutnya meningkatkan level protein *p53*. Protein *p53* akan meningkatkan ekspresi *CDK inhibitor (CKI)* khususnya *p21CIP1* untuk menghentikan siklus sel, sehingga sel mempunyai kesempatan untuk memperbaiki DNA sebelum kembali memasuki siklus sel. Selain itu, protein *p53* juga dapat meningkatkan protein proapoptosis dari keluarga *Bcl-2* seperti *Bax*, *Noxa*, dan *Puma*, untuk mengaktifkan jalur apoptosis. (Fenton dan Longo, 2008; Moscow dan Cowan, 2007).

2.4 Karsinogenesis

Pada sel kanker terdapat gen yang mengembangkan pertumbuhan sel secara otonom yang disebut onkogen. Onkogen berasal dari mutasi protoonkogen dan dicirikan oleh kemampuan mengembangkan pertumbuhan sel dalam keadaan tidak adanya sinyal yang memicu pertumbuhan. Jika pada sel normal faktor pertumbuhan dibuat oleh satu tipe sel dan berpengaruh pada sel-sel di sekitarnya untuk menstimulasi proliferasi (pola parakrin). Pada

kebanyakan sel kanker mempunyai kemampuan mensintesis faktor pertumbuhan untuk digunakan sendiri (pola autokrin). Pada sel kanker diidentifikasi terdapat ekspresi yang berlebihan atau mutasi pada reseptor faktor pertumbuhan. Keadaan ini menyebabkan penghantaran sinyal mitogenik terjadi secara terus-menerus, bahkan pada saat tidak terdapat faktor pertumbuhan di lingkungannya dan membuat sel kanker lebih merespon faktor pertumbuhan bahkan pada tingkat yang secara normal tidak memicu proliferasi. Lebih jauh, sel kanker memperoleh otonomi pertumbuhan melalui mutasi dalam gen yang menyandi berbagai komponen kaskade jalur pensinyalan dari reseptor faktor pertumbuhan. Sebagai contoh, pada onkogen *RAS* terjadi gangguan pada hidrolisis GTP, sehingga protein *RAS* terperangkap dalam keadaan teraktivasi dan sel dipaksa berproliferasi terus-menerus (Stricker dan Kumar, 2007).

Model klasik perkembangan tumor terdiri dari tahap inisiasi dan promosi telah digantikan dengan model yang lebih dinamis dan kompleks dimana akumulasi kerusakan genetik menyebabkan kekacauan pengaturan pembelahan sel dan melucuti mekanisme kematian sel. Selama pembelahan sel sekitar 3 milyar pasang nukleotida harus disalin secara cermat untuk menghasilkan replika DNA yang tepat pada tiap *daughter cell*. Proses kanker dimulai dengan perubahan pada sejumlah faktor yang menjamin keakuratan proses replikasi ini. Defek pada gen yang memperbaiki kerusakan DNA seperti *BRCA1* dan *BRCA2* berkaitan dengan meningkatnya risiko kanker payudara dan ovarium (Moscow dan Cowan, 2007).

Mutasi pada gen *p53* sering terdapat pada sel kanker, hilangnya fungsi protein *p53* menyebabkan terjadinya instabilitas genom. Genom yang tidak stabil akan mudah mendapat mutasi tambahan, sehingga meningkatkan akumulasi mutasi yang memicu perubahan sel menjadi ganas (Andreeff *et al.*, 2000). Sel kanker juga sering mempunyai mekanisme *checkpoint* yang abnormal terutama pada transisi dari fase G0/G1 menuju fase S. Mutasi pada gen penekan tumor *Rb* dan *p53* bertanggung jawab terhadap kelonggaran pada *checkpoint* tersebut, yang mengakibatkan sel dengan DNA yang rusak dapat memasuki fase S tanpa adanya proses perbaikan DNA (Fenton dan Longo, 2008).

Perkembangan dan progresifitas dari tumor ganas tidak hanya dipengaruhi oleh perubahan genetik, tetapi juga tergantung dari lingkungan mikro di sekitar sel-sel kanker yang pada umumnya mengalami inflamasi. Kini jalur pensinyalan inflamasi pada sel tumor menjadi salah satu target potensial untuk intervensi terapi pada kanker. Pada banyak kanker jalur pensinyalan inflamasi seperti *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) mampu mempengaruhi sifat-sifat dari kanker melalui aktivasi transkripsi gen yang berhubungan dengan proliferasi, angiogenesis, metastasis, inflamasi, dan aktivasi protein antiapoptosis pada sel kanker (Baud dan Karin, 2009).

Pengenalan antigen tumor oleh *antigen-presenting cells* (APC), yang selanjutnya APC mempresentasikan kepada sel T CD8⁺ melalui ekspresi molekul MHC kelas 1. Proses ini diikuti oleh diferensiasi sel T CD8⁺ sebagai respon imun terhadap sel tumor. APC juga menstimulasi sel T penolong

CD4⁺ untuk mengasilkan sitokin seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) dan *interferon- γ* (IFN- γ) untuk meningkatkan sensitivitas sel T CD8⁺ terhadap sel tumor (Abbas dan Lichtman, 2003).

Aktivitas TNF- α terjadi melalui dua reseptor yang berbeda, yakni *TNF receptor 1* (TNFR-1) dan *TNF receptor 2* (TNFR-2). Walaupun afinitas TNF- α terhadap TNFR-2 lebih tinggi daripada terhadap TNFR-1, tetapi TNFR-1 mampu memulai mayoritas aktivitas biologis dari TNF- α . TNFR-1 diekspresikan pada seluruh tipe sel, sedangkan ekspresi TNFR-2 hanya terbatas pada sel imun. TNFR-1 mempunyai peran ganda yakni dalam penghantaran sinyal yang menjamin viabilitas sel dan termasuk sinyal yang menginduksi apoptosis sel (van-Horssen *et al.*, 2006).

Pada sel tumor, TNF- α akan mestimulasi reseptor yang terdapat pada permukaan sel yakni TNFR-1 sehingga terjadi pengikatan molekul pensinyalan sitoplasma seperti *TNF receptor-associated death domain* (TRADD) pada *death domain* reseptor tersebut. Kemudian kompleks molekul yang terdiri dari *TNF receptor-associated factor-2* (TRAF2), *TNF receptor-associated factor-5* (TRAF5), dan *receptor interacting protein* (RIP) melekat pada reseptor melalui interaksi dengan TRADD. Kompleks molekul tersebut mengaktivasi jalur MAPK dan jalur klasik NF- κ B. Pada aktivasi jalur klasik NF- κ B, kompleks TRAF/RIP mengaktivasi kompleks *I κ B kinase- β* (IKK- β) dan *NF- κ B essential modulator* (NEMO) sehingga terjadi fosforilasi *inhibitor of NF- κ B- α* (I κ B α). Peristiwa ini menyebabkan pelepasan berbagai bentuk dimer faktor transkripsi NF- κ B khususnya heterodimer p65:p50. NF- κ B yang

telah aktif bertranslokasi menuju nukleus dan mengaktivasi berbagai transkripsi gen, salah satunya mengatur proliferasi seperti siklin D, siklin E, CDK2, myc, dan rel (Hayden dan Ghosh, 2008). Sedangkan pada jalur MAPK terjadi aktivasi kinase protein *MAPK/ERK kinase-1* (MEK-1), *MAPK kinase-7* (MKK7), dan *c-Jun n-terminal kinase* (JNK) secara berturut-turut, pada akhirnya akan mengaktivasi faktor transkripsi AP-1 (van-Horssen *et al.*, 2006).

2.5 Temulawak

Di Asia tanaman dari keluarga *Zingiberaceae* telah lama digunakan sebagai rempah-rempah dan obat tradisional. Dalam keluarga *Zingiberaceae* terdapat berbagai spesies *Curcuma* khususnya *C. longa*, *C. aromatica*, dan *C. xanthorrhiza* Roxb. (Itokawa *et al.*, 2008). Salah satu spesies dari keluarga ini yakni temulawak yang mempunyai tatanama sebagai berikut: divisi *Spermatophyta*, subdivisi *Angiospermae*, kelas *Monocotyledonae*, bangsa *Zingiberales*, suku *Zingiberaceae*, marga *Curcuma*, jenis *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Temulawak termasuk jenis temu-temuan yang tumbuh liar baik di hutan daerah tropis maupun di pekarangan sekitar pemukiman dan tumbuh subur pada tanah yang gembur sehingga rimpangnya mudah berkembang menjadi besar (Parahita, 2006).

Akar tanaman ini membentuk rimpang yang berjumlah 3-4 buah. Warna kulit rimpang coklat kemerahan atau kuning tua, beraroma tajam, dengan daging rimpang berwarna jingga tua atau kuning. Rimpang temulawak

terbentuk pada kedalaman 16 cm. Bagian rimpang pada temulawak sering digunakan sebagai obat tradisional (Hutapea, 2000).

Rimpang temulawak mengandung pati, protein, zat warna kuning kurkuminoid, serta minyak atsiri. Pati merupakan komponen terbesar dalam temulawak, sekitar 29-34% (Hernani dan Rahardjo, 2005). Pada temulawak diketahui mengandung senyawa kurkuminoid yang memberi warna kuning pada rimpang memiliki kemampuan antibakteri, antikanker, antiradang, dan antioksidan. Sedangkan kandungan minyak atsiri menghasilkan bau yang tajam dan rasa pahit (Parahita, 2006).

Kandungan kurkuminoid pada rimpang temulawak sekitar 2.1% yang terdiri dari kurkumin (1,43%), demetoksikurkumin (0,86%), dan bisdemetoksikurkumin (0,12%). Di samping mengandung kurkuminoid, temulawak juga mengandung senyawa sesquiterpenoid yang didapatkan dari ekstrak antara lain α -kurkumen, ar-turmeron, dan xanthorrhizol. Ketiga senyawa ini juga mempunyai aktivitas antikanker dan antibakteri yang kuat (Lin dan Lin-Shiau, 2001; Itokawa *et al.*, 2008).

Cheng *et al.* (2001) mengadakan uji klinis untuk menilai kemanjuran kurkumin sebagai agen kemopreventif pada 25 pasien yang berisiko tinggi dengan lesi prakanker. Pada uji klinis tersebut, ekstrak *Curcuma* diberikan secara oral dengan dosis awal 500 mg/hari dan ditingkatkan secara bertahap hingga 8.000 mg/hari selama 3 bulan. Uji klinis lain pada 15 pasien dengan kanker kolorektal yang mengalami kekambuhan dengan kemoterapi standar

diberikan ekstrak *Curcuma* dengan dosis 440-2200 mg/hari yang mengandung sekitar 36-180 mg kurkumin untuk 4 bulan (Sharma *et al.*, 2001). Hasil uji klinis sejauh ini menunjukkan bahwa ekstrak *Curcuma* dapat ditoleransi dengan baik dan tidak ditemukan adanya toksisitas hingga dosis 10 gram/hari.

Pada pemberian peroral kurkumin akan direduksi menjadi dihidrokurkumin, tetrahidrokurkumin, dan heksahidrokurkumin terutama pada intestinal. Selanjutnya produk metabolit kurkumin ini diubah menjadi konjugat monoglukuronid oleh enzim β -glukuronidase meliputi kurkumin glukuronoside, dihidrokurkumin glukuronoside, tetrahidrokurkumin glukuronoside, dan heksahidrokurkumin glukuronoside, proses konjugasi ini juga terjadi terutama pada mukosa intestinal. Aktivitas antikanker produk metabolit kurkumin tidak lebih baik dibandingkan prekursorinya yakni kurkumin (Lin dan Lin-Shiau, 2001).

Ireson *et al.* (2002) menyelidiki produk metabolit kurkumin dalam fraksi subselular jaringan intestinal pada manusia dan tikus dibandingkan dengan metabolismenya dalam fraksi hepar pada manusia dan tikus. Kurkumin glukuronoside ditemukan dalam mikrosom jaringan intestinal dan hepar, sedangkan metabolit yang lain seperti kurkumin sulfat, tetrahidrokurkumin, dan heksahidrokurkumin ditemukan dalam sitosol jaringan intestinal dan hepar pada manusia dan tikus. Proses konjugasi kurkumin paling besar terjadi pada fraksi jaringan intestinal manusia, sedangkan konjugasi kurkumin pada fraksi hepar manusia lebih rendah. Kemampuan reduksi kurkumin baik pada

sitosol jaringan intestinal maupun hepar manusia jauh melebihi kemampuan reduksi pada jaringan intestinal dan hepar tikus.

2.6 Pengaruh Kurkuminoid terhadap Karsinogenesis

Berdasarkan laporan dari Thangapazham *et al.* (2006) kurkumin beserta turunannya mempunyai kemampuan menekan proliferasi sel kanker dengan menghambat aktivasi dari *IκB kinase-β* (IKK) sehingga mencegah aktivasi jalur *nuclear factor kappa B* (NF-κB). Secara *in vitro*, kurkumin terbukti menghambat ekspresi fos, jun, dan myc yang berkaitan dengan aktivasi faktor transkripsi AP-1, faktor transkripsi ini berperan dalam aktivitas proliferasi sel (Aggarwal *et al.*, 2003). Kurkumin juga menekan berbagai gen yang mengatur kelangsungan hidup sel seperti Bcl-2, siklin D, interleukin-6 (IL-6), *cyclooxygenase-2* (COX-2), dan *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9). Pemeriksaan menggunakan *Western blotting* dan *immunofluorescence* menunjukkan bahwa kurkumin mampu menekan aktivasi jalur NF-κB dengan mencegah fosforilasi *inhibitor of NF-κB-α* (IκBa) dan translokasi bentuk aktif NF-κB (p65:p50) menuju nukleus (Itokawa *et al.*, 2008). Heterodimer p65:p50 tersebut akan mengaktifasi berbagai transkripsi gen, salah satunya mengatur proliferasi seperti siklin D, siklin E, CDK2, myc, dan rel (Hayden dan Ghosh, 2008).

2.7 Model Kanker pada Mencit

Mencit merupakan hewan coba yang dipilih untuk mempelajari proses yang rumit pada perkembangan tumor karena waktu regenerasinya pendek,

ukurannya kecil, mudah untuk dikawinkan, dan kemiripan genetik antara mencit dan manusia. Model kanker pada hewan coba mampu menggambarkan seluruh perkembangan tumor yang terjadi secara *in vivo* meliputi peran gen yang mengatur proses intrinsik sel kanker seperti proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis, termasuk interaksi yang rumit antara berbagai tipe sel pada jaringan tumor. Mencit yang diinduksi tumor harus berasal dari perkawinan dekat (*inbred*) karena mempunyai susunan genetik yang homogen.

Inokulasi sel tumor ke dalam mencit resipien merupakan salah satu pendekatan untuk memperoleh model kanker pada mencit. Pendekatan ini terdapat 2 jenis yakni model *xenograft* and model *orthotopic*. Model *xenograft* menggunakan sel tumor manusia yang diinokulasikan pada mencit resipien secara subkutan atau secara intravena untuk menyerupai proses metastasis sel kanker. Model ini menggunakan mencit resipien yang telah dilemahkan sistem imunnya. Pada model *orthotopic* dapat menggunakan sel tumor manusia atau sel tumor mencit, dan diinokulasikan ke dalam jaringan mencit resipien sesuai dengan jaringan asal sel tumor tersebut. Sel tumor mencit dapat diinokulasikan pada mencit resipien yang imunokompeten (*syngeneic*).

Pertumbuhan tumor secara *in vivo* membutuhkan interaksi antara host dan jaringan tumor secara tepat, meliputi perkembangan pembuluh darah dan dukungan jaringan stromal. Kelemahan pendekatan ini adalah membutuhkan sel tumor dalam jumlah besar dan tidak mampu menggambarkan tahapan-

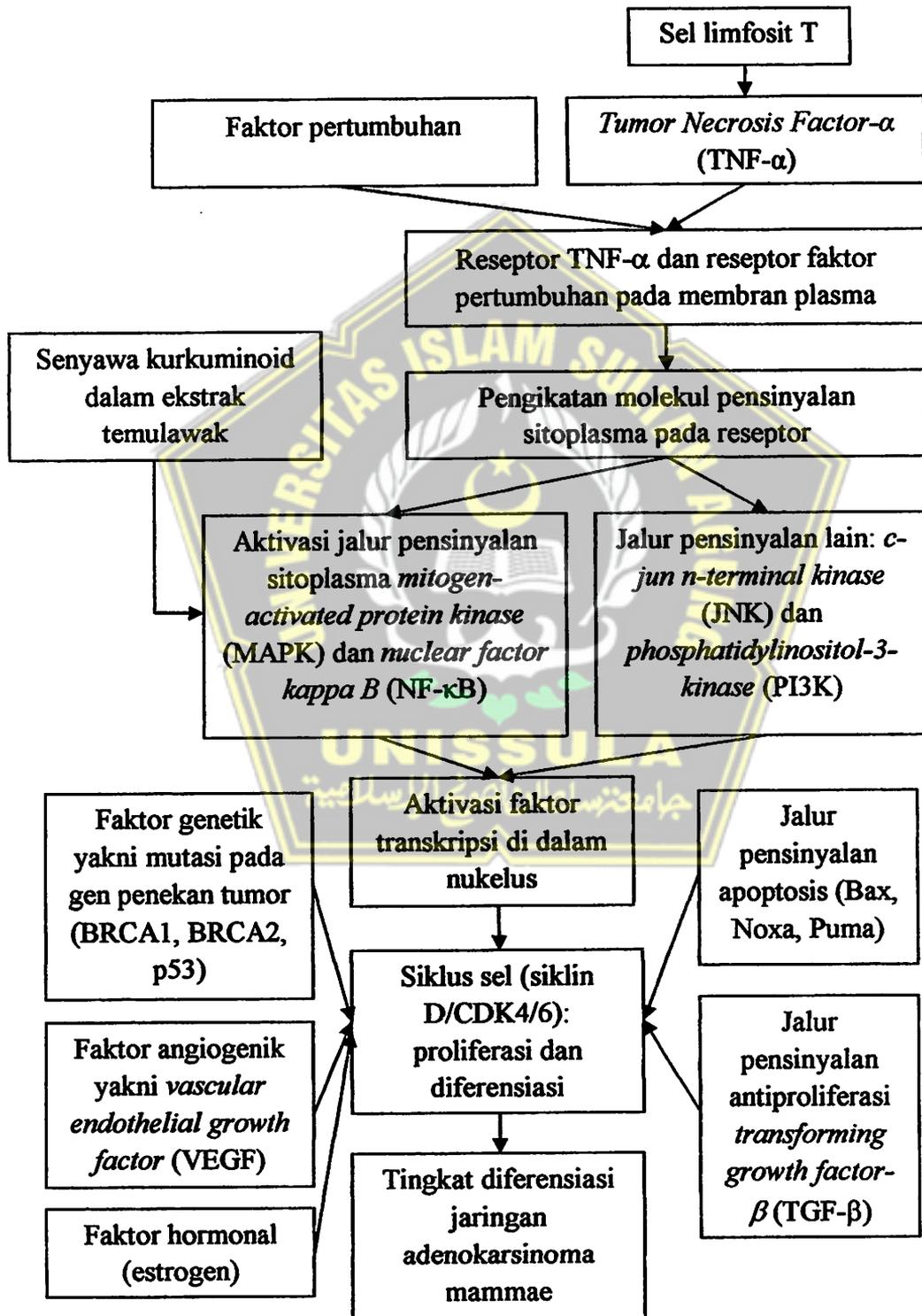
tahapan terjadinya kanker pada manusia. Sedangkan keuntungan menggunakan pendekatan ini adalah pertumbuhan tumor membutuhkan waktu yang singkat dan sel tumor dapat dimanipulasi secara *in vitro* sebelum diinokulasikan (Winslow dan Jacks, 2008).

Mencit C3H merupakan salah satu galur mencit *inbred* yang dihasilkan dari perkawinan antara mencit jantan dan betina dari satu peranakan hingga mencapai 20 atau lebih generasi secara berturut-turut. Semua keturunan yang dihasilkan bila diruntut silsilahnya akan tertuju pada suatu pasangan indukan yang sama, sehingga semua mencit *inbred* identik secara genetik (*isogenic*) (*Data Sheet of C3H Inbred Mice*, 2008).

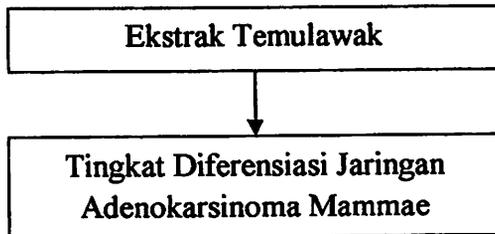
Mencit C3H dikembangkan oleh Strong pada tahun 1920, dengan menyilangkan mencit Bagg albino betina dan DBA jantan yang diseleksi untuk insiden tumor mammae yang tinggi. Kebanyakan subgalurnya mempunyai kemampuan reproduksi yang baik. Subgalur mencit C3H *unfoster* mempunyai insiden tumor mammae yang tinggi, disebabkan oleh virus Bittner yang ditularkan dari induk ke anaknya melalui air susu. Subgalur mencit C3H yang dihasilkan dengan melakukan *fostering* pada mencit yang masih muda atau dengan memindahkan ovum yang subur ke galur yang bebas dari *mammary tumour virus* dinamakan sebagai mencit C3H *specified pathogen free* (SPF). Mencit C3H SPF tidak lagi mengandung virus Bittner sehingga mempunyai insiden tumor mammae yang rendah. Mencit C3H SPF ini banyak digunakan untuk berbagai penelitian umum, sedangkan

mencit C3H *unfoster* khusus digunakan untuk penelitian tentang tumor mammae (Festing, 2010).

2.8 Kerangka Teori



2.9 Kerangka Konsep



2.10 Hipotesis

Terdapat perbedaan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang akan dilaksanakan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*.

3.2 Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel

3.2.1.1 Variabel bebas

Ekstrak temulawak

3.2.1.2 Variabel tergantung

Tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1 Ekstrak temulawak

Ekstrak temulawak adalah ekstrak rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Universitas Diponegoro, diekstraksi dengan pelarut etanol menggunakan metode maserasi, diberikan pada mencit C3H bertumor dengan dosis sesuai kelompok perlakuan yakni 0,82 mg/hari,

1,64 mg/hari, dan 3,28 mg/hari per oral dengan sonde lambung sekali sehari selama 3 minggu. Skala data: ordinal.

3.2.2.2 Tingkat direfensiasi jaringan adenokarsinoma mammae

Tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae adalah gambaran histopatologi jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H berdasarkan tiga parameter yakni formasi tubular dan glandular, variasi nukleus, dan aktivitas mitosis, pembacaan preperat dilakukan oleh ahli patologi anatomi menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 400 kali dan penentuan tingkat diferensiasi sesuai kriteria dari *Nottingham Grading System* yakni sebagai berikut:

3.2.2.1.1 Formasi tubular dan glandular merupakan parameter arsitektur untuk menilai organisasi selular tumor dan kemiripan bentuknya dibandingkan jaringan normal.

1. Formasi tubulus dan glandular lebih dari >75% (1).
2. Formasi tubulus dan glandular 10-74% (2).
3. Formasi tubulus dan glandular 0-9% (3).

3.2.2.1.2 Variasi nukleus merupakan parameter sitologi untuk menilai ukuran dan bentuk nukleus serta tekstur kromatinnya.

1. Nukleus sedikit membesar, kromatin tidak atau sedikit gelap, variasi bentuk dan ukuran nukleus tidak ada atau sedikit (1).

2. Pembesaran nukleus sedang, kromatin terlihat gelap, variasi bentuk dan ukuran nukleus sedang (2).
3. Nukleus terlihat besar dan kacau, hiperkromatik, mempunyai nukleoli yang jelas, variasi bentuk dan ukuran nukleus banyak (3).

3.2.2.1.3 Aktivitas mitosis merupakan parameter laju pertumbuhan, penghitungan jumlah gambaran mitosis dalam 10 lapang pandang besar.

1. Gambaran mitosis 0-9 dalam 10 lapang pandang besar (1).
2. Gambaran mitosis 10-19 dalam 10 lapang pandang besar (2).
3. Gambaran mitosis 20 atau lebih dalam 10 lapang pandang besar (3).

3.2.2.2.4 Skor setiap parameter dijumlahkan dan diinterpretasi sesuai dengan ketentuan berikut:

1. Diferensiasi baik skor total 3-5 (derajat 1).
2. Diferensiasi sedang skor total 6-7 (derajat 2).
3. Diferensiasi buruk skor total 8-9 (derajat 3).

Skala data: ratio.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.2 Populasi

3.3.2.1 Populasi target

Mencit C3H dengan klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mammaelia

Ordo : Rodentia

Famili : Muridae

Subfamili : Murinae

Genus : Mus

Spesies : *Mus musculus* galur C3H

3.3.2.2 Populasi terjangkau

Mencit C3H yang diperoleh dari Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan November 2010.

3.3.3 Sampel

3.3.2.1 Cara pengambilan sampel

Sampel penelitian diperoleh dari populasi terjangkau secara acak dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi antara lain mencit C3H, umur 6 bulan, sehat, berat 18-20 gram, tidak ada kelainan anatomis yang tampak, dan tumbuh tumor setelah inokulasi. Kriteria eksklusi antara lain tidak tumbuh tumor setelah dilakukan inokulasi,

mencit tampak sakit (gerakan tidak aktif) atau mati saat perlakuan, dan terdapat kelainan anatomis yang tampak.

3.3.2.2 Besar sampel

Besar sampel untuk penelitian eksperimental ini berdasarkan kriteria WHO yakni jumlah hewan coba untuk setiap kelompok penelitian minimal 5 ekor (WHO, 1993). Dalam penelitian ini terdapat 4 kelompok penelitian dan jumlah hewan coba yang digunakan sebanyak 6 ekor untuk setiap kelompok penelitian, maka besar sampel secara keseluruhan adalah 24 ekor.

3.4 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.2 Instrumen

3.4.2.1 Alat untuk pembuatan ekstrak temulawak

3.4.2.1.1 Tabung elenmeyer volume 2 L dan 500 mL

3.4.2.1.2 Corong kaca besar

3.4.2.1.3 Kertas saring

3.4.2.1.4 Cawan porselin

3.4.2.1.5 Penangas air

3.4.2.1.6 Evaporator

3.4.2.2 Kandang mencit

3.4.2.3 Alat untuk inokulasi jaringan tumor

3.4.2.3.1 Cawan petri ukuran 6 dan 15 cm

3.4.2.3.2 Cawan ukuran 10 cm

3.4.2.3.3 Spuit insulin 1 cc

3.4.2.3.4 Jarum suntik trokar

3.4.2.3.5 Gunting lurus 10 cm

3.4.2.3.6 Gunting bengkok 10 cm

3.4.2.3.7 Pinset anatomi 10 cm

3.4.2.3.8 Alas fiksasi

3.4.2.4 Alat untuk pembuatan preparat histologi

3.4.2.4.1 *Digital Tissue Processor Leica^R*

3.4.2.4.2 *Tissue Bloking Leica^R EG-1160*

3.4.2.4.3 Inkubator suhu 56 °C *Memmert^R*

3.4.2.4.4 Mikrotom *Leica^R RM-2135*

3.4.2.4.5 *Auto Stainer Leica-XL^R*

3.4.2.4.6 Kaca objek dan kaca penutup

3.4.1.4 Alat untuk pembacaan preparat histologi adalah *Multi-Head*

Microscope Olympus^R

3.4.3 Bahan Penelitian

3.4.3.1 Bahan untuk pembuatan ekstrak temulawak

3.4.3.1.1 Rimpang temulawak

3.4.3.1.2 Etanol 70%

3.4.3.2 Bahan untuk inokulasi jaringan tumor

3.4.3.2.1 Alkohol 70%

3.4.3.2.2 Larutan garam fisiologik

3.4.3.2.3 Es batu

3.4.3.2.4 Mencit C3H sebagai donor tumor

3.4.3.2.5 Mencit C3H sebagai mencit resipien

3.4.3.3 Bahan untuk pembuatan preparat histologi

3.4.3.3.1 Kaca objek dan kaca penutup

3.4.3.3.2 Formalin buffer 10%

3.4.3.3.3 Alkohol 70%, 96%, 100%; alkohol asam; dan xylol

3.4.3.3.4 Parafin cair (paraplast)

3.4.3.3.5 Poly-L-lysine

3.4.3.3.6 Hematoxylin dan eosin

3.4.3.3.7 Entelan

3.4.3.3.8 Aquadest

3.5 Cara Penelitian

3.5.2 Cara Perlakuan

Sebelum inokulasi, mencit menjalani masa adaptasi selama satu minggu. Mencit C3H ditempatkan dalam kandang dan diberi ransum pakan standar dan minum secara *ad libitum*.

Jaringan tumor pada mencit donor diambil dan dibuat bubur tumor, kemudian bubur tumor tersebut diinokulasikan pada 24 ekor mencit resipien.

Mencit C3H yang telah diinokulasi jaringan tumor, diamati selama 4 hari. Mencit yang berhasil tumbuh tumornya (teraba benjolan tumor) dibagi menjadi 4 kelompok penelitian secara acak, 6 ekor mencit untuk masing-masing kelompok penelitian. Kelompok penelitian tersebut antara lain:

3.5.2.1 Kelompok kontrol (K): mencit C3H bertumor, tidak mendapat ekstrak temulawak.

3.5.2.2 Kelompok perlakuan 1 (P1): mencit C3H bertumor, mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 0,82 mg/hari dilarutkan dalam 0,2 mL aquadest sekali sehari selama 3 minggu.

3.5.2.3 Kelompok perlakuan 2 (P2): mencit C3H bertumor, mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 1,64 mg/hari dilarutkan dalam 0,2 mL aquadest sekali sehari selama 3 minggu.

3.5.2.4 Kelompok Perlakuan 3 (P3): mencit C3H bertumor, mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 3,28 mg/hari dilarutkan dalam 0,2 mL aquadest sekali sehari selama 3 minggu.

Mencit dikandangkan sesuai kelompoknya dan mendapatkan ransum pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Ekstrak temulawak diberikan secara per oral dengan sonde lambung sekali sehari selama 3 minggu.

Setelah perlakuan selesai, mencit dianastesi dengan eter selanjutnya dibunuh dengan cara dislokasi cervical, kemudian diambil jaringan tumornya. Jaringan tumor tersebut dimasukkan dalam parafin dan dibuat menjadi preparat histopatologi.

Pembacaan preparat histologi dilakukan oleh ahli patologi anatomi menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali. Penentuan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae berdasarkan kriteria *Nottingham Grading System* seperti berikut ini:

3.5.2.1 Formasi tubular dan glandular merupakan parameter arsitektur untuk menilai organisasi selular tumor dan kemiripan bentuknya dibandingkan jaringan normal.

3.5.2.1.1 Formasi tubulus dan glandular lebih dari > 75% (1).

3.5.2.1.2 Formasi tubulus dan glandular 10-74% (2).

3.5.2.1.3 Formasi tubulus dan glandular 0-9% (3).

3.5.2.2 Variasi nukleus merupakan parameter sitologi untuk menilai ukuran dan bentuk nukleus serta tekstur kromatinnya.

3.5.2.2.1 Nukleus sedikit membesar, kromatin tidak atau sedikit gelap, variasi bentuk dan ukuran nukleus tidak ada atau sedikit (1).

3.5.2.2.2 Pembesaran nukleus sedang, kromatin terlihat gelap, variasi bentuk dan ukuran nukleus sedang (2).

3.5.2.2.3 Nukleus terlihat besar dan kacau, hiperkromatik, mempunyai nukleoli yang jelas, variasi bentuk dan ukuran nukleus banyak (3).

3.5.2.3 Aktivitas mitosis merupakan parameter laju pertumbuhan, penghitungan jumlah gambaran mitosis dalam 10 lapang pandang besar.

3.5.2.3.1 Gambaran mitosis 0-9 dalam 10 lapang pandang besar (1).

3.5.2.3.2 Gambaran mitosis 10-19 dalam 10 lapang pandang besar (2).

3.5.2.3.3 Gambaran mitosis 20 atau lebih dalam 10 lapang pandang besar (3).

3.5.2.4 Skor setiap parameter dijumlahkan dan diinterpretasi sesuai dengan ketentuan berikut:

3.5.2.4.1 Diferensiasi baik skor total 3-5 (derajat 1).

3.5.2.4.2 Diferensiasi sedang skor total 6-7 (derajat 2).

3.5.2.4.3 Diferensiasi buruk skor total 8-9 (derajat 3).

3.5.3 Cara Pembuatan Ekstrak Temulawak

3.5.3.1 Rimpang temulawak yang telah dikeringkan ditumbuk halus, kemudian serbuknya ditimbang.

3.5.3.2 Serbuk temulawak dimasukkan dalam tabung elenmeyer volume 2 L dan diberi pelarut etanol 70% (2000 mL) hingga serbuk terendam. Kemudian didiamkan selama 24 jam, sambil sesekali dikocok; dilakukan sebanyak 3 kali.

3.5.3.3 Disaring menggunakan kertas saring. Hasil filtratnya dievaporasi dengan suhu 60-70⁰C dan putaran 70 rpm.

3.5.3.4 Hasil ekstrak yang pekat diuapkan hingga mendapat ekstrak yang kental. Didapatkan hasil 0,0702 g ekstrak untuk setiap 1 kg bahan maka presentasinya 7,02%.

3.5.3.5 Angka konversi dosis pada manusia (70 kg) ke mencit (20-30 g) adalah 0,0026 (Laurence & Bacharach, 1964). Dosis temulawak didasarkan pada dosis pemberian pada manusia berkisar antara 8.000-10.000 mg (Aggarwal *et al.*, 2003; Sharma *et al.*, 2001),

diambil dosis rata-ratanya 9.000 mg kemudian dikalikan angka konversi (0,0026) maka diperoleh dosis temulawak pada mencit adalah 23,4 mg. Dengan mempertimbangkan perolehan ekstrak temulawak terhadap 1 kg rimpang temulawak adalah 7,02%, sehingga dosis ekstrak temulawak pada mencit adalah 7,02% dikalikan 23,4 mg didapatkan 1,64 mg. Untuk penetapan dosis selanjutnya menggunakan kelipatan dua, maka dosis berturut-turut ialah 0,82 mg/hari; 1,64 mg//hari; dan 3,28 mg/hari.

3.5.3 Cara Inokulasi Jaringan Tumor

3.5.3.1 Mencit donor dimatikan dengan eter, kemudian diletakkan terlentang pada alas fiksasi dan keempat kakinya difiksasi dengan jarum.

3.5.3.2 Kulit di bagian yang bertumor diusap dengan alkohol 70%, kemudian dibuat sayatan dengan gunting lurus, untuk mengeluarkan tumor.

3.5.3.3 Tumor diletakkan di cawan petri kecil yang terlebih dahulu dicuci dengan garam fisiologis dan diletakkan di atas es.

3.5.3.4 Amati bentuk dan keadaan tumor, kemudian ambil/potong jaringan tumor yang masih baik yaitu bagian yang tanpa nekrosis (biasanya di daerah tepi jika tumor besar) dan taruh di cawan petri kecil lainnya. Bersihkan dari jaringan ikat (simpai), jaringan nekrotik, dan darah. Kemudian potong-potong sampai halus dengan gunting hingga akhirnya terbentuk bubur tumor.

Tambahkan garam fisiologis lebih kurang sama dengan volume tumor.

3.5.3.5 Bubur tumor disuntikkan subkutan di aksila kanan mencit dengan dosis 0,2 mL menggunakan spuit insulin 1 cc.

3.5.3.6 Masing-masing mencit diberi nomor ditingalnya dan dimasukkan ke dalam kandang secara individual dan diberi label berisi: jenis kelompok perlakuan dan tanggal inokulasi.

3.5.4 Prosedur Pembuatan Preparat Histopatologi

3.5.4.1 Fiksasi. Potongan jaringan adenokarsinoma mammae dimasukkan dalam larutan formalin buffer (larutan formalin 10% dalam buffer natrium asetat sampai mencapai pH 7). Waktu fiksasi jaringan 18-24 jam. Setelah fiksasi selesai, jaringan dimasukkan dalam larutan aquadest selama satu jam untuk proses penghilangan larutan fiksasi.

3.5.4.2 Dehidrasi. Potongan jaringan dimasukkan dalam etanol selama 60 menit. Jaringan menjadi lebih jernih dan transparan.

3.5.4.3 Clearing. Jaringan kemudian dimasukkan dalam larutan xylol selama 20 menit.

3.5.4.4 Infiltrasi. Parafin cair (paraplast) dengan titik didih 60°C ditunggu selama 30 menit.

3.5.4.5 *Embedding*. Jaringan dalam parafin cair dan ditunggu sampai parafin menjadi padat. Jaringan dalam parafin dipotong setebal 4 mikron dengan mikrotom. Potongan jaringan ditempelkan pada

kaca objek yang sebelumnya telah diolesi poly-L-lysine sebagai perekat. Jaringan pada kaca objek dipanaskan dalam inkubator dengan suhu 56-58⁰C sampai parafin mencair.

3.5.4.5 Pewarnaan jaringan dengan hematoxylin eosin, secara berurutan jaringan pada kaca objek dimasukkan dalam:

1. Xylol 5-10 menit
2. Xylol 5-10 menit
3. Alkohol 100% 5 menit
4. Alkohol 96% 5 menit
5. Alkohol 70% 5 menit
6. Aquadest 5 menit
7. Hematoxylin 5-10 menit
8. Air mengalir 5-10 detik
9. Alkohol asam 2-3 kali celup
10. Air mengalir 5-10 detik
11. Eosin 1-3 menit
12. Alkohol 70% 3-4 kali celup
13. Alkohol 96% 3-4 kali celup
14. Alkohol 100% 3-4 kali celup
15. Xylol 5-10 menit
16. Xylol 5-10 menit

Kaca objek ditutup dengan kaca penutup yang telah diberi entelan.

3.6 Tempat dan Waktu

3.6.4 Tempat Penelitian

Pengambilan sampel, eksperimen, dan analisis data dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

3.6.2 Waktu Penelitian

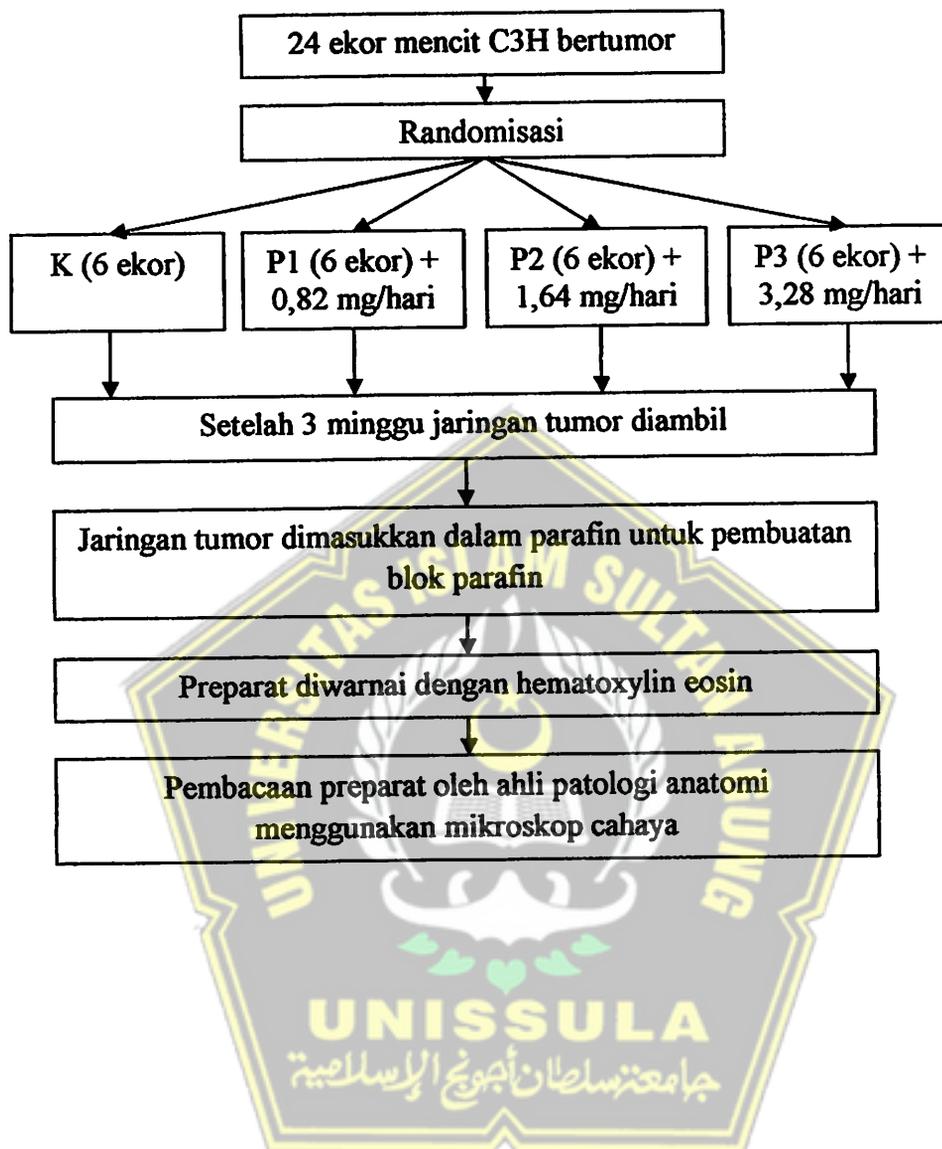
Penelitian dilaksanakan pada bulan November hingga Desember tahun 2010.

3.7 Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari empat kelompok penelitian ditabulasi dan diolah menggunakan program komputer SPSS. Data tersebut terlebih dahulu dilakukan tes normalitas dan tes homogenitas. Kemudian data dianalisis dengan uji nonparametrik Kruskal Wallis.



3.8 Alur Penelitian



BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Sampel penelitian sejumlah 24 ekor mencit C3H bertumor dibagi menjadi empat kelompok secara acak, setiap kelompok terdiri dari enam ekor. Perlakuan selama tiga minggu. Sampel tidak ada yang mati selama penelitian.

Setelah perlakuan selesai, semua sampel dibunuh dan jaringan tumornya diambil untuk dibuat preparat histopatologi. Penentuan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae berdasarkan kriteria dari *Nottingham Grading System*. Pembacaan preparat menggunakan mikroskop cahaya pada 5 lapang pandang dengan perbesaran 400 kali dan dilakukan oleh ahli patologi anatomi. Hasil pembacaan preparat untuk tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae pada setiap kelompok disajikan dalam Tabel 4.1.

Pada kelompok kontrol sampel nomor satu dan enam menunjukkan tingkat diferensiasi sedang dan empat sampel lainnya menunjukkan tingkat diferensiasi baik. Pada kelompok perlakuan 1 dan 3 semua sampelnya menunjukkan tingkat diferensiasi baik. Pada kelompok perlakuan 2, lima sampel menunjukkan tingkat diferensiasi baik dan hanya sampel nomor enam yang menunjukkan tingkat diferensiasi sedang.

Tabel 4.1. Tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae pada masing-masing kelompok

Kelompok	Nomor Sampel	Lapang Pandang					Rata-rata
		1	2	3	4	5	
Kontrol	1	6	6	6	6	6	6
	2	5	5	4	5	5	4,8
	3	5	4	4	5	4	4,4
	4	5	5	5	5	6	5,2
	5	5	5	5	5	5	5
	6	6	6	6	6	6	6
Perlakuan 1	1	5	5	5	5	5	5
	2	5	5	5	4	4	4,6
	3	4	4	5	4	4	4,2
	4	5	4	4	4	5	4,4
	5	4	4	5	5	5	4,6
	6	4	4	4	4	4	4
Perlakuan 2	1	5	5	5	5	5	5
	2	4	4	4	4	5	4,2
	3	5	5	5	5	5	5
	4	5	4	5	5	4	4,6
	5	4	4	4	4	5	4,2
	6	6	6	6	6	6	6
Perlakuan 3	1	4	4	4	4	5	4,2
	2	4	5	6	5	5	5
	3	5	5	5	5	5	5
	4	5	5	4	4	4	4,4
	5	5	4	5	5	4	4,6
	6	5	5	5	5	6	5,2

Keterangan:

Skor 3-5 menunjukkan tingkat diferensiasi baik

Skor 6-7 menunjukkan tingkat diferensiasi sedang

Skor 8-9 menunjukkan tingkat diferensiasi buruk

Diambil dari kriteria *Nottingham Grading System*, modifikasi sistem Scarff-Bloom-Richardson (Cardiff dan Jensen, 2000)

Pada uji Shapiro Wilk menunjukkan sebaran data kelompok kontrol dan perlakuan 2 normal ($p > 0,05$), sedangkan sebaran data kelompok perlakuan 1 dan 3 tidak normal ($p < 0,05$). Pada tes homogenitas menunjukkan varians data homogen ($p > 0,05$). Karena tidak memenuhi syarat uji parametrik, maka analisis dilanjutkan dengan uji nonparametrik Kruskal Wallis.

Pada uji Kruskal Wallis diperoleh nilai $p > 0,05$; sehingga nilai rerata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sama. Hasil uji statistik disajikan dalam Lampiran 1.

4. 2 Pembahasan

Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis didapatkan nilai $p > 0,05$; menunjukkan tidak ada perbedaan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Pada penelitian sebelumnya, pemberian kombinasi ekstrak temulawak dengan ekstrak tapak dara yang mengandung senyawa vinblastin dan vinkristin menunjukkan hasil yang serupa yakni tidak ada perbedaan yang bermakna pada tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae antara kelompok kontrol dan perlakuan. Namun, berdasarkan parameter berat dan volume tumor, pemberian kedua ekstrak tersebut dapat menurunkan berat dan volume jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H (Naziya, 2006). Bila dibandingkan penelitian sebelumnya, penelitian yang dilakukan peneliti mempunyai sampel lebih banyak dan menggunakan variasi dosis.

Tingkat diferensiasi jaringan merupakan karakteristik khusus dari proses pertumbuhan pada sekelompok sel tertentu yang menunjukkan perubahan ciri fisik dan fungsional sel untuk membentuk struktur sel dewasa yang berbeda. Pada jaringan kanker dapat ditemukan sel-sel yang tidak berdiferensiasi, sel tersebut kehilangan struktur dan fungsi sel normal (Stricker dan Kumar, 2007). Kanker yang berasal dari jaringan epitel kelenjar payudara sangat

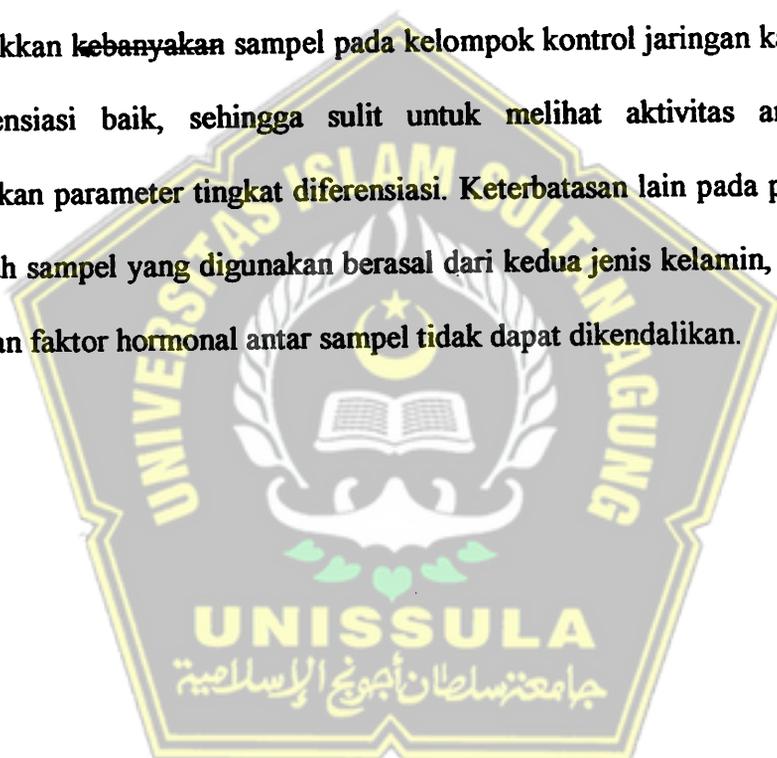
dipengaruhi oleh faktor hormonal dan genetik. Estrogen merupakan hormon yang paling berperan, jalur pensinyalan hormon ini mampu meregulasi pertumbuhan jaringan kelenjar payudara melalui pengaruh pada siklus sel, apoptosis, dan motilitas sel. Faktor genetik yang paling berperan pada karsinogenesis kanker payudara adalah mutasi pada *BRCA1* dan *BRCA2*, kedua gen ini merupakan gen penekan tumor yang memfasilitasi perbaikan DNA (Arrick, 2008).

Pertumbuhan dan diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H dipengaruhi pula oleh faktor hormonal dan genetik. Bukti penelitian pada mencit C3H menunjukkan jaringan kanker pada kelenjar payudara akan timbul secara spontan pada mencit ini tanpa harus diinokulasi dengan jaringan kanker. Angka kejadiannya mencapai 99% pada mencit C3H betina saat usia 7 bulan dan hanya 1% pada mencit C3H jantan. Tipe jaringan adenokarsinoma mammae yang paling sering timbul pada mencit C3H adalah tipe asinus (*Data Sheet of C3H Inbred Mice*, 2010).

Pada uji sitotoksitas yang pernah dilakukan, dua senyawa fitokimia pada temulawak yakni kurkumin dan xanthorrhizol dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara manusia MDA-MB-231 melalui induksi apoptosis (Cheah *et al.*, 2009). Penelitian lain menunjukkan ekstrak temulawak dapat menghambat pertumbuhan sel hepatoma HepG2 dengan induksi apoptosis melalui jalur mitokondria (Handayani *et al.*, 2007). Hasil penelitian-penelitian *in vitro* membuktikan potensi senyawa kurkumin pada temulawak sebagai antikanker (Aggarwal *et al.*, 2003). Namun, hasil yang

diperoleh peneliti tidak mendukung hasil penelitian *in vitro*, sehingga dapat disimpulkan pemberian ekstrak temulawak dengan dosis bertingkat 0,82; 1,64; dan 3,28 mg/hari tidak mempengaruhi tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

Hal ini mungkin disebabkan jaringan kanker hasil inokulasi mempunyai tingkat diferensiasi baik, berdasarkan hasil pembacaan preparat yang menunjukkan ~~kebanyakan~~ sampel pada kelompok kontrol jaringan kankernya berdiferensiasi baik, sehingga sulit untuk melihat aktivitas antikanker berdasarkan parameter tingkat diferensiasi. Keterbatasan lain pada penelitian ini adalah sampel yang digunakan berasal dari kedua jenis kelamin, sehingga perbedaan faktor hormonal antar sampel tidak dapat dikendalikan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan adalah

5.1.1 Pemberian ekstrak temulawak tidak berpengaruh terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

5.1.2 Pemberian ekstrak temulawak dengan berbagai dosis (0,82; 1,64; dan 3,28 mg/hari) tidak berpengaruh terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

5.1.3 Tidak ada perbedaan tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae pada kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh antara lain:

5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan sampel dari satu jenis kelamin untuk mengetahui pengaruh ekstrak temulawak terhadap tingkat diferensiasi jaringan adenokarsinoma mammae.

5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pengaruh ekstrak temulawak terhadap jaringan adenokarsinoma mammae berdasarkan parameter lain seperti apoptosis atau volume tumor.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, A.K., Lichtman, A.H., 2003, *Cellular and Molecular Immunology*, 5th edition, Saunders, Philadelphia, 391-403.
- Aggarwal, B.B., Kumar, A., Bharti, A.C., 2003, Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies, *Anticancer Research*, 23, 362-398.
- American Cancer Society, Inc., 2009, *Breast Cancer Facts and Figures*, Atlanta.
- Andreeff, M., Goodrich, D.W., Pardee, A.B., 2000, Cell Proliferation, Differentiation, and Apoptosis, in: Bast Jr., R.C., Kufe, D.W., Pollock, R.E., Weichselbaum, R.R., Holland, J.F., Frei, E., Holland and Frei's *Cancer Medicine*, 5th edition, B.C. Decker, Inc., Hamilton, 17-28.
- Arrick, B.A., 2008, Breast Cancer, in: Mendelsohn, J., Howley, P.M., Israel, M.A., Gray, J.W., Thompson, C.B., *The Molecular Basis of Cancer*, 3rd edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, 423-428.
- Baud, V., Karin, M., 2009, Is NF- κ B a Good Target for Cancer Therapy? Hopes and Pitfalls, *Nat Rev Drug Discov*, 8, 33-40.
- Cardiff, R.D., Jensen, R.A., 2000, Histological Grading of Breast Cancer, dalam: http://ccm.ucdavis.edu/bcancercd/311/grading_diagram.html, dikutip tanggal 10 April 2010.
- Cheah, Y.H., Nordin, F.J., Tee, T.T., Azimahtol, H.L.P., Abdullah, N.R., Ismail, Z., 2008, Antiproliferative Property and Apoptotic Effect of Xanthorrhizol on MDA-MB-231 Breast Cancer Cells, *Anticancer Research*, 28, 3677-3689.
- Cheng, A.L., Hsu, C.H., Lin, J.K., Hsu, M.M., Ho, Y.F., Shen, T.S., Ko, J.Y., Lin, J.T., Lin, B.R., Ming-Shiang W., Yu, H.S., Jee, S.H., Chen, G.S., Chen, T.M., Chen, C.A., Lai, M.K., Pu Y.S., Pan, M.H., Wang, Y.J., Tsai, C.C., Hsieh, C.Y., 2001, Phase I Clinical Trial of Curcumin, a Chemopreventive Agent, in Patients with High-Risk or Pre-malignant Lesions, *Anticancer Research*, 21, 2895-2900.
- Choudhuri, T., Pal, S., Aggarwal, M.L., Das, T., Sa, G., 2002, Curcumin Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells through p53-dependent Bax Induction, *Federation of European Biochemical Societies*, 512, 334-340.
- Cigler, T., Ryan, P.D., 2008, Breast Oncology: Clinical Presentation and Genetics, in: Chabner, B.A., Lynch Jr., T.J., Longo, D.L., *Harrison's Manual of Oncology*, The McGraw Hill Companies, Inc., 511-519.

- Dalimartha, S., 2004, Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, jilid 2, Trubus Agriwidya, Jakarta, 182-190.
- Data Sheet of C3H Inbred Mice, 2008, Harlan Laboratories, Inc., Indianapolis.
- Eroschenko, V.P., 2008, Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations, 11th edition, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.
- Fenton, R.G., Longo, D.L., 2008, Cancer Cell Biology and Angiogenesis, in: Fauci, A.S., Kasper D.L., Longo, D.L., Braunwald, E., Hauser, S.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J., Harrison's Principles of Internal Medicine, volume 1, 17th edition, The McGraw-Hill Companies, Inc., 498-513.
- Festing, M.F.W., 2010, Data Sheet: Inbred Strains of Mice: C3H, The Jackson Laboratory, Leicester.
- Giuliano, A.E., 2006, Breast, in: Doherty, G.M., Way, L.W., Current Diagnosis and Treatment, 12th edition, The McGraw-Hill Companies, Inc., 313-320.
- Handayani, T., Sakinah, S., Nallappan, M., Pihie, A.H.L., 2007, Regulation p53-, Bcl-2- and Caspase-dependent Signaling Pathway in Xanthorizol-induced Apoptosis in HepG2 Hepatoma Cells, *Anticancer Research*, 27, 965-971.
- Hassett, M.J., O'Malley, A.J., Pakes, J.R., Newhouse, J.P., Earle, C.C., 2006, Frequency and Cost of Chemotherapy-Related Serious Adverse Effects in a Population Sample of Women with Breast Cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 98, 1108-1116.
- Hayden, M.S., Ghosh, S., 2008, Shared Principles in NF- κ B Signaling, *Journal of Cell*, 132, 344-362.
- Hernani, Rahardjo, M., 2005, Tanaman Berkhasiat Antioksidan, Penebar Swadaya, Jakarta, 55-56.
- Hutapea, J.R., 2000, Inventaris Tanaman Obat Indonesia, jilid 1, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta, 85-86.
- Ireson, C.R., Jones, D.J., Orr, S., Coughtrie, M.W., Boocock, D.J., Williams, M.L., Fanner, P.B., Steward, W.P., Gescher, A.J., 2002, Metabolism of The Cancer Chemopreventive Agent Curcumin in Human and Rat Intestine. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 11, 105-111.
- Itokawa, H., Shi, Q., Akiyama, T., Morris-Natschke, S.L., Lee, K., 2008, Recent Advances in The Investigation of Curcuminoids, *Chinese Medicine*, 3, 1-13.
- Karsono, B., 2006, Aspek Selular dan Molekular Kanker, dalam: Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata K., M., Setiati, S., Buku Ajar Ilmu

- Penyakit Dalam, jilid 2, edisi 4, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 813-815.
- Kemp, W.L., Burns, D.K., Brown, T.G., 2008, Pathology: The Big Picture, The McGraw-Hill Companies, Inc., 333-336.
- Lin, J., Lin-Shiau, S., 2001, Mechanisms of Cancer Chemoprevention by Curcumin, *National Science Council ROC*, 25, 59-66.
- Lippman, M.E., 2008, Breast Cancer, in: Fauci, A.S., Kasper D.L., Longo, D.L., Braunwald, E., Hauser, S.L., Jameson, J.L., Loscalzo, J., Harrison's Principles of Internal Medicine, volume 1, 17th edition, The McGraw-Hill Companies, Inc., 563-570.
- Macdonald, F., Ford, C.H.J., Casson A.G., 2004, Molecular Biology of Cancer, 2nd edition, Garland Science/BIOS Scientific Publishers, London, 1-10.
- Mintian, Y., Yi, W., 2008, Tumor Regio Toraks, dalam: Desen, W., Tiehua, R., Yixin, Z., Zongyuan, Z., Jingqing, L., Yilong, W., Zhuming, G., Buku Ajar Onkologi Klinis, edisi 2, alih bahasa oleh: Willie Japaries, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 366-383.
- Moscow, J.A., Cowan, K.H., 2007, Biology of Cancer, in: Goldman, L., Ausiello, D., Cecil Medicine, 23rd edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 1345-1348.
- Nafrialdi, Gan, S., 2003, Antikanker, dalam: Ganiswara, S.G., Setiabudy, R., Suyatna, F.D., Purwastyastuti, Nafrialdi, Farmakologi dan Terapi, edisi 4, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 686-701.
- Naziya, 2006, Pengaruh Pemberian Ekstrak Tapak Dara dan Temulawak terhadap Gambaran Histopatologi Kelenjar Payudara Mencit C3H yang Diinokulasi Adenokarsinoma Mammae, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Parahita, M.L., 2006, *Curcuma xanthorrhiza* (Temulawak), dalam: http://toiUSD.multiply.com/journal/item/240/Curcuma_xanthorrhiza_Temulawak_-_Morfologi_Anatomi_dan_Fisiologi, dikutip tanggal 16 Januari 2010.
- Profil Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, 2008, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Tengah, Semarang, 38-39.
- Ruddon, R.W., 2007, Cancer Biology, 4th edition, Oxford University Press, Inc., New York, 3-16.

- Sears, R.C., Nevins, J.R., 2002, Signaling Networks that Link Cell Proliferation and Cell Fate, *The Journal of Biological Chemistry*, 14, 11617-11620.
- Sharma, R.A., McLelland, H.R., Hill, K.A., Ireson, C.R., Euden, S.A., Manson, M.M., Pirmohamed, M., Marnett, L.J., Gescher, A.J., Steward, W.P., 2001, Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Study of Oral *Curcuma* Extract in Patients with Colorectal Cancer, *Clinical Cancer Research*, 7, 1894-1900.
- Swart, R., Downey, L., Lang, J., Thompson, P.A., Livingston, R.B., Stopeck, A.P., 2009, Breast Cancer, dalam: <http://emedicine.medscape.com/acticle/283561-overview>, dikutip tanggal 9 Januari 2010.
- Stricker, T.P., Kumar, V., 2007, Neoplasia, in: Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., Robbins Basic Pathology, 8th edition, Elsevier Saunders, Philadelphia, 173-208.
- Sudiana, I.K., 2008, Patobiologi Molekuler Kanker, Penerbit Salemba Medika, Jakarta, 19-26.
- Thangapazham, R.L., Sharma, A., Maheshwari, R.K., 2006, Multiple Molecular Targets in Cancer Chemoprevention by Curcumin, *The AAPS Journal*, 8, 443-449.
- Ulbricht, C., Seamon, E., 2010, Natural Standard Herbal Pharmacotherapy, 1st edition, Mosby Elsevier.
- van-Horssen, R., ten-Hagen, T.L.M., Eggermont, A.M.M., 2006, TNF- α in Cancer Treatment: Molecular Insights, Antitumor Effects, and Clinical Utility, *The Oncologist*, 11, 397-408.
- WHO, 1993, Research Guideline for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicine, WHO Regional Office for the Western Pacific, Manila.
- Winslow, M.M., Jacks, T., 2008, Genetic Mouse Models of Cancer, in: Mendelsohn, J., Howley, P.M., Israel, M.A., Gray, J.W., Thompson, C.B., *The Molecular Basis of Cancer*, 3rd edition, Saunders Elsevier, Philadelphia, 129-136.
- Zhang, W., Liu, H.T., 2002, MAPK Signaling Pathways in The Regulation of Cell Proliferation in Mammalian Cells, *Cell Research*, 12, 9-18.