



KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
REPUBLIK INDONESIA
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
Jl. H.R. Rasuna Said Kav 8-9, Kuningan, Jakarta Selatan, 12940
Telepon: (021) 57905611 Faksimili: (021) 57905611
Laman: <http://www.dgip.go.id> Surel: dopatent@dgip.go.id

Nomor : HKI.3-HI.05.01.03.2015/04665
Lampiran : -
Hal : Pemberitahuan Permohonan Paten Telah Diumumkan

Jakarta, 28 Oktober 2015

Yth. LPPM Universitas Islam Sultan Agung
Jalan Raya Kaligawe Km.4, PO. BOX. 1054 Semarang
(u.p. Dr. Ir. Suryani Alifah, MT)

Dengan ini diberitahukan bahwa Permohonan Paten:

Tanggal Pengajuan : 23 Oktober 2014
(21) Nomor Permohonan : P00201406508
(71) Pemohon : LPPM Universitas Islam Sultan Agung
(54) Judul Invensi : SIRUP UMBI KELADI TIKUS (Typhonium Flagelliforme)
SEBAGAI OBAT KANKER PAYUDARA
(30) Data Prioritas :
(74) Konsultan HKI :
(22) Tanggal Penerimaan : 23 Oktober 2014

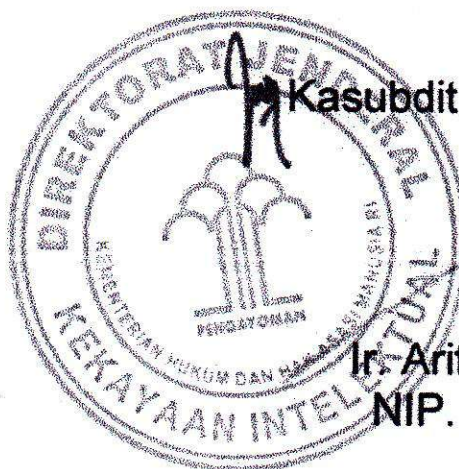
telah diumumkan pada tanggal: **23 Oktober 2015** dengan nomor publikasi: **2015/04665**.

Sesuai dengan ketentuan yang diatur dalam undang-undang tentang Paten, saudara dapat mengajukan permohonan pemeriksaan substantif Paten paling lambat 3 (tiga) tahun terhitung sejak tanggal penerimaan permohonan paten sebagaimana tersebut di atas. Tidak diajukannya permohonan substantif paten dimaksud dalam waktu yang ditentukan tersebut akan mengakibatkan permohonan paten ini dianggap ditarik kembali. Apabila telah dilakukan pembayaran maka informasi ini diabaikan.

Demikian untuk diketahui.



00-2015-139895



a.n. Direktur
Kasubdit Permohonan dan Publikasi

Ir. Arif Syamsudin, S.H., M.Si.
NIP. 196303021987111001

Tembusan:
Direktur Jenderal Kekayaan Intelektual.

LAPORAN HASIL PENELITIAN
HIBAH BERSAING



Model Sediaan Sirup Umbi Keladi Tikus (*Typonium Flagelliforme*) Sebagai Obat Kanker Payudara

TIM PENELITI:

dr. Chodidjah, M.Kes (0615086301)

Dr. dr. H. Taufiq R Nasihun, M.Kes, Sp. And (0010115501)

Dra. Eni Widayati, M.Si (0613126201)

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
MARET 2012**

Model Sediaan Sirup Umbi Keladi Tikus (*Typhonium Flagelliforme*) Sebagai Obat Kanker Payudara

Chodidjah, * Taufiq R Nasihun,** Eni Widayati*** Ediyanti Goenarwo****

*Bagian Anatomi FK Unissula
**Bagian Biokimia FK Unissula
***Bagian Kimia FK Unissula
**** Bagian Farmasi FK Unissula

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan jenis kanker terbanyak pada wanita diseluruh dunia. Di Indonesia kanker payudara paling sering ditemukan setelah kanker leher rahim. Didunia lebih dari 477.000 kematian setiap tahun akibat kanker payudara. Kejadian kanker payudara di China meningkat dari 1% menjadi 2% dengan 200.000 kasus tiap tahun terdiagnosis penyakit ini .

Pengobatan kanker dengan obat antikanker, operasi, radioterapi serta obat tradisional masih belum berhasil. Dengan digalakkannya berbagai penelitian tentang tanaman obat, secara invitro diketahui umbi keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) dapat menginduksi apoptosis sel kanker. Pada penelitian umbi keladi tikus dapat menimbulkan fragmentasi DNA, meningkatkan pengeluaran cytochrom c, menurunkan ekspresi Bcl-2, dan meningkatkan ekspresi caspase 3 dan caspase 9 pada kultur sel CEMs secara invitro. Secara invivo pada dosis 200, 400 dan 800 mg/Kg BB yang diberikan secara oral pada tikus BALB/c leukemia selama 28 hari terdapat penurunan jumlah sel ganulosit immature dari darah tepi tikus BALB/c leukemia .Pada sel kanker payudara terdapat ekspresi *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* (HER2/neu) dan protein Bcl-2 sebagai antiapoptotik yang terlibat pada proliferasi sel kanker. Tujuan penelitian ini akan melihat secara invivo pengaruh pemberian sirup umbi keladi tikus terhadap kadar HER 2 /neu dan ekspresi protein Bcl-2 mencit C3H yang mendapat transpalntasi sel adenokarsinoma.

Metode penelitian eksperimental laboratorium,dengan desain penelitian *post test trandomized control group design*. Sampel secara random diambil sejumlah 15 mencit yang telah tumbuh tumor dan dikelompokkan menjadi tiga kelompok masing – masing lkelompok 5 ekor mencit.Kelompok satu diberi aqua 0,2 cc peroral, kelompok diberi 0,2 cc dosis 40 mg/ml sirup umbi keladi tikus peroral dan kelompok 3 diberi 0,2 cc dosis 80 mg/ml sirup umbi keladi tikus peroral, sekali sehari selama 25 hari. Pada hari ke 26, diukur besarnya volume memakai alat ukur kaliper. Jaringan tumor preparat histopatologi dilanjutkan dengan pengecatan imunohistokimia untuk pemeriksaan ekspresi protein Her2/neu dan Bcl-2. Data volume tumor,Her2/c, danBcl2 normalitasnya dengan uji *Kolmogorof Smirnov* dan homogenitas data diuji dengan Levene test. Kemudian dilanjutkan dengan uji One Way Anova dan Uji LSD.

Hasil ukuran volume tumor dosis 80 mg/mL tertinggi, diikuti kelompok dosis 40 mg/mL dan terkecil pada kelompok kontrol. Ekspresi Her2neu dosis 40 mg/mL dan dosis 80 mg/mL menurun,dan berbeda dengan kelompok kontrol. Ekspresi Bcl2 dosis 40 mg/mL dan dosis 80 mg/mL menurun dan berbeda dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan pemberian sirup umbi keladi tikus dengan dosis 40 dan 80 mg/mL dapat menurunkan ekspresi Her2neu dan Bcl2. Namun, tidak terjadi penurunan ukuran volume tumor baik pada dosis 40 mg/mL maupun 80 mg/mL.

Kata kunci: Sirup umbi keladi tikus, HER2/neu, Bcl-2, Invivo, Kanker payudara

ABSTRACT

Breast cancer is the most common cancer in women world wide. In Indonesia, breast cancer is the leading cause of death after cervical cancer. Each year, breast cancer causes 477,000 deaths. In china, the incidence of breast cancer increased from a rate of 1% to 2% with 200,000 cases diagnosed each year. Cancer therapy using anti-cancer drug, sugery, radiotherapy and traditional medication has not been effective. Keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*), an Indonesian medicinal plant has been shown to induce cancer cell apoptosis, generate DNA fragmentation, increase the relase of cytochrom c, decrease Bcl-2 expression and increase caspase 3 and caspase 9 in CEMs cell culture invitro. In an invivo study, the oral administration of *keladi tikus* at the dose of 200, 400 and 800 mg/Kg BW in BALB/c with leukemia for 28 days decreased the immature granulocyte. In breast cancer, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2/neu) and Bcl-2 serving as anti-apoptotic protein play a role in cancer cell poliferation. This present study aimed to investigate the effect of the admnistration of *keladi tikus* tuber on the level of HER 2/neu and Bcl-2 protein expression in transplanted adenocarcinoma cell in C3H mice

In this experimental study using post test randomized control group design, 15 mice with tumor were randomly devided into three groups. Group one to three were given 0.2 cc aqua, 0.2 cc of *Typhonium flagelliforme* tuber syrup at the concentration of 40 mg/ml and 80 mg/ml respectively once a day for 25 days. On the 26 th day, the tumor volume was evaluated using a caliper. The preparation of tumor tissue for histopathological evaluation was performed followed by immunohistochemical staining to determine Her2/neu and Bcl-2 protein expression. the data on tumor volume, Her2/c, and Bcl2 was analyzed using *Kolmogorof Smirnov* and tested for homogeneity using Levene test followed by One Way Anova and LSD

The result showed that the highest tumor volume was fonud for the treated group of 80 mg/mL, followed by the group of 40 mg/ml and the control group. there was a decrease in Her2/c and Bcl2 in the treated groups and diference compared with the control group.

In conclusion, the administration of *keladi tikus* syrup at the dose fo 40 and 80 mg/mL can decrease the expression of Her2neu and Bcl2 but not the tumor volume.

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan jenis kanker terbanyak pada wanita diseluruh dunia. Di Indonesia kanker payudara paling sering ditemukan setelah keganasan leher rahim (Tjindarbumi,2002). Adenokarsinoma mammae merupakan kanker payudara yang terbanyak dari jenis lainnya (Bongen,2000). Setiap tahun hampir 800.000 wanita di seluruh dunia terdiagnosis kanker payudara dan 314.000 kematian akibat penyakit tersebut (Leonard, 2007). Di Amerika pada tahun 2005 terjadi 40.870 kematian karena kanker payudara meliputi 40.410 wanita dan 460 pria. Pada pria kanker payudara jarang ditemukan yaitu 1:125 (Kumar, 2007) Kejadian kanker payudara di China meningkat dari 1% menjadi 2% dengan 200.000 kasus tiap tahun terdiagnosis penyakit ini (Green M, 2008)

Pengobatan tumor baik dengan operasi, radiasi ataupun dengan sitostatika, sampai saat ini belum berhasil dengan baik dan memerlukan biaya yang tinggi. Mekanisme kerja obat antikanker yang saat ini dipakai Irresa adalah dengan mengeblok ikatan reseptor dengan faktor pertumbuhan sehingga akan terjadi penurunan proliferasi sel kanker (Normanno,2006; Weinberg, 2007). Dengan digalakkannya berbagai penelitian tentang tanaman obat, secara empiris diketahui umbi keladi tikus (*Typhonium flagelliforme*) dapat menyembuhkan penyakit tumor. Pada penelitian umbi keladi tikus dosis 10µg/mL dan 20µg/mL dapat menginduksi apoptosis yaitu menimbulkan fragmentasi DNA, meningkatkan pengeluaran cytochrom c, menurunkan ekspresi Bcl-2, dan meningkatkan ekspresi caspase 3 dan caspase 9 pada kultur sel CEMs secara invitro (Mohan, 2010). Secara invivo pada dosis 200, 400 dan 800 mg/Kg BB yang diberikan secara oral pada tikus BALB/c leukemia selama 28 hari terdapat penurunan jumlah sel ganulosit immature dari darah tepi tikus BALB/c leukemia (Mohan, 2010).

Epidermal Growth Factor Receptor 2/ HER2neu merupakan protein faktor pertumbuhan yang terlibat pada pertumbuhan sel secara normal. Pada sel kanker payudara terdapat ekspresi HER2neu (Dimitriadis A,2009). Sel kanker payudara mempunyai reseptor estrogen. Pengikatan antara *Epidermal Growth Factor* dengan reseptornya, akan mengaktifkan molekul transduktor membran, menstimulasi aktifitas molekul transduktor di sitoplasma yaitu enzim tirosinkinase. dan memicu proliferasi sel. (Schuell B, 2006)

Bcl-2 merupakan protein yang dikode oleh gen Bcl-2 ,terdapat pada kromosom 18q.21.3. Bcl-2 akan meningkat pada keganasan dalam meningkatkan proliferasi sel tumor. Protein Bcl-2 sebagai antiapoptotik dan terdapat pada kanker payudara, prostat, limfosit leukemia kronik dan

kanker paru. Pada beberapa penelitian, ekspresi Bcl-2 meningkat pada kultur sel kanker yang resisten dengan kemoterapi (Adams JR,2007;Arribas FM,2007). Sirup umbi keladi tikus yang diberikan pada mencit C3H yang bertumor, dimungkinkan zat aktif flavonoid akan berikatan dengan reseptor estrogen, sehingga sinyal transduksi protein di sitoplasma tidak diteruskan ke nucleus, akan terjadi hambatan transkripsi gen dan hambatan proliferasi. Masih jarangnya penelitian secara *in vivo* maka penelitian ini akan melihat pengaruh pemberian sirup umbi keladi tikus terhadap kadar HER 2 /neu dan ekspresi protein Bcl-2 mencit C3H yang mendapat transplanti sel adenokarsinoma .

METODE PENELITIAN dan Cara PENELITIAN

Metode Penelitian Eksperimental laboratorium dengan desain penelitian post test randomized control group

CARA PENELITIAN

Digunakan seekor mencit C3H bertumor sebagai donor. Mencit donor dimatikan dengan cara dibius dengan eter. Lakukan insisi pada kulit diatas tumor, dilakukan pengangkatan jaringan tumor. Jaringan tumor yang akan di transplantasikan, dibersihkan dari pembuluh darah dan jaringan yang nekrosis. Jaringan tumor dicacah, sehingga menjadi bubuk dan ditambahkan larutan garam fisiologis dengan perbandingan kira – kira 1 ; 1. Bubur tumor sebanyak 0,2 ml disuntikkan secara subkutis ke setiap mencit resipien.:(jumlah 30 mencit C3H). Setelah tujuh hari diperiksa pertumbuhan tumor dan diukur besarnya tumor. Mencit yang tumbuh tumor sebanyak 21 ekor. Secara random sejumlah 21 mencit dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Kelompok satu sebanyak 7 ekor diberi aqua 0,2 cc peroral, kelompok dua sebanyak 7 ekor diberi 0,2 cc dosis 40 mg/ml sirup umbi keladi tikus peroral dan kelompok tiga sebanyak 7 ekor diberi dosis 80 mg/ml sirup umbi keladi tikus peroral, sekali sehari selama 25 hari. Pada hari ke 25 ada mencit yang mati pada kelompok kontrol (1 ekor), Kelompok dosis 1 (2 ekor). Pada hari ke 26, diukur besarnya tumor (panjang dan lebar dalam mm) memakai alat ukur kaliper. Jaringan tumor diambil dan dibuat preparat histopatologi dari 15 ekor mencit (per kelompok 5 ekor mencit) dilanjutkan dengan pengecatan imunohistokimia untuk pemeriksaan ekspresi protein HER2/neu protein Bcl-2

Pembuatan Sirup umbi keladi tikus:

Untuk pembuatan sirup umbi keladi tikus, terlebih dahulu dilakukan pembuatan ekstrak etanol umbi keladi tikus sebagai berikut:

_Pembuatan Ekstrak Etanol Umbi Keladi Tikus (Arief M, 1994: Dep.Kes ,1995)

Umbi Keladi Tikus basah, dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian diiris-iris. Timbang sebesar 6 kg, diekstraksi dengan menggunakan dengan alat soxhlet yaitu menggunakan pelarut etanol 90% sebanyak 60 L (1:10), hasil ekstrak yang didapat ditimbang = 50 g . Dari ekstrak tersebut dilanjutkan dengan pembuatan sirup.

Pembuatan Sirup Umbi Keladi Tikus:

Dibuat terlebih dulu sirup simplek yaitu dengan menimbang saccharosa sebesar 130 g, tambahkan larutan Nipagin 0,25 % b/v, aduk-2 diatas api kecil (dengan pemanasan), sampai homogen, tambahkan aquadest panas sampai didapat volume 200 mL.

Untuk pembuatan sirup umbikeladi tikus dosis 40 mg/mL, di timbang sebanyak 4 g ekstrak etanol umbi keladi tikus dan ditambahkan sirup simplek sampai menjadi 100 mL sehingga didapat dosis / konsentrasi 40 mg/mL. Demikian juga ditimbang 8 g ekstrak etanol umbi keladi tikus , ditambahkan sirup simplek sampai menjadi 100 mL sehingga didapat dosis/ konsentrasi 80 mg/mL

Mengukur ekspresi Her2.neu dan Bcl2 dengan cara pengecatan Imno Histo Kimia (Sudiana, 2005)

Reagen yang dipakai:

- H₂O₂ 3 %
- Trypsin 0,25 % dalam PBS (Phospat Buffer Saline)
- PBS (Phospat Buffer Saline)
- Larutan DAB (untuk indikator warna) terdiri dari:
 - Aquadestilata : 1 ml
 - Buffer substrat H₂O₂ : 50 tetes
 - Larutan DAB stok : 1 tetes
- Xylol, Etanol absolut, 70%,80%,95%.
- Anti Her2/neu (United States Biological) dan anti Bcl-2 (Biocare)

Cara: Lakukan deparaffinisasi dengan cara memasukkan sayatan jaringan berturut – turut kedalam:

1. Xylol : 2 menit
2. Xylol : 2 menit
3. eranol absolut : 1 menit
4. etanol absolut : 1 menit
5. etanol 95 % : 1 menit
6. etanol 95 % : 1 menit
7. etanol 80% : 1 menit
8. etanol 70% : 1 menit
9. air mengalir: 10- 15 menit
10. Masukkan ke dalam larutan H₂O₂ 3% : 30 menit
11. Cuci dengan PBS 3 kali (a:2 menit)
12. Trypsin 0,25 % selama 6 menit pada suhu 37⁰C
13. Cuci dengan PBS 3 kali (a:2 menit)
14. Masukkan kedalam monoklonal antibodi anti Bcl-2 : 30 menit
15. Cuci dengan PBS 3 kali (a:2 menit)
16. Masukkan kedalam antibodi sekunder anti Bcl-2 peroksidase
17. Cuci dengan PBS 3 kali (a:2 menit)
18. Masukkan kedalam substrat kromogen : 5 menit.
19. Cuci dengan PBS 3 kali (a:2 menit) kemudian dibilas dengan aquadestilata
20. Masukkan ke dalam Mayer-Hematoxylin : 6 menit
21. Cuci dengan air mengalir
22. Dehidrasi, - clearing, mounting.

Hasil dilihat dibawah mikroskop ekspresi Bcl-2 dengan menggunakan metode Hot Spot.

Analisis data

Data volume tumor dan data ekspresi Her2/neu diuji normalitas dengan uji *Kolmogorov Smirnov* dan diuji homogenitas dengan uji *Levene test* dengan hasil distribusi data volume tumor normal (Kelompok kontrol $p = 0,171$; kelompok dosis 1 dan 2 $p = 0, 200$) dan homogen ($p = 0,65$).

Dengan uji One Way Anova didapat hasil $p = 0,043$, kemudian dilanjutkan dengan uji Pos Hoc dengan LSD. Data Her2/neu di uji dengan uji *Kolmogorof Smirnov*, homogenitas diuji dengan uji Levene didapat hasil distribusi data normal ($p = 0,200$ pada semua kelompok) dan homogen ($p = 0,095$). Dengan uji *One Way Anova* didapat hasil $p = 0,000$, dilanjutkan dengan uji Pos Hoc LSD. Data Bcl2 diuji dengan uji *Kolmogorov Smirnov* dan diuji homogenitas dengan uji Levene test dengan hasil distribusi normal ($p = 0,200$) dan homogen ($p = 0,064$) dilanjutkan dengan uji One Way Anova didapat hasil $p = 0,000$, kemudian dilanjutkan dengan uji Pos Hoc dengan LSD.

Kelayakan etik

Pelaksanaan penelitian telah mendapat persetujuan dari Komisi Bioetika Penelitian

Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang .

HASIL PENELITIAN

Sejumlah 30 mencit di lakukan inokulasi/ transplantasi bubur tumor, setelah satu minggu sebanyak 21 ekor mencit tumbuh tumor dan 9 ekor mencit tidak tumbuh tumor. Sebanyak 21 ekor mencit yang telah tumbuh tumor, dikelompokkan menjadi tiga kelompok. Kelompok satu sebanyak 7 ekor diberi aqua 0,2 cc peroral, kelompok dua sebanyak 7 ekor diberi 0,2 cc dosis 40 mg/ml sirup umbi keladi tikus peroral dan kelompok tiga sebanyak 7 ekor diberi dosis 80 mg/ml sirup umbi keladi tikus peroral, sekali sehari selama 25 hari. Pada perjalanan penelitian, ada mencit yang mati pada kelompok kontrol sebanyak 2 ekor (hari ke 18 dan 20), kelompok dosis satu sebanyak 1 ekor (hari ke 22). Sehingga yang dipakai untuk pengambilan data adalah tiap kelompok sebanyak 5 ekor mencit. Pada hari ke 25, diukur besarnya tumor (panjang dan lebar dalam mm) memakai alat ukur kaliper. Jaringan tumor diambil dan dibuat preparat histopatologi dilanjutkan dengan pengecatan imunohistokimia untuk pemeriksaan ekspresi protein Bcl-2 .

Hasil pengukuran volume tumor terlihat pada tabel 1:

No	Kelompok Kontrol (mm ³)	Kelompok dosis 1(mm ³)	Kelompok dosis 2(mm ³)
1	2780,82	3895,08	5303,35
2	2107,07	4481,17	4468,56
3	2735,58	2838,47	4887,78
4	2876,58	4178,52	3320,17
5	2319,24	2942,54	3981,79
Rerata	2563,8680	3667,1560	4392,3300

Data volume tumor normalitas distribusi data diuji dengan uji *Kolmogorof Smirnov* , homogenitas diuji dengan uji Levene didapat hasil distribusi data normal (Kelompok kontrol p = 0,171; kelompok dosis 1 dan 2 p = 0, 200) dan homogen (p = 0,65) . Uji dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* didapat hasil p = 0,043.

Uji Pos Hoc LSD didapat hasil sebagai berikut (Tabel 2)

Tabel 2. Hasil Uji Pos Hoc LSD Volume Tumor

Kelompok	Kontrol	Dosis 1	Dosis 2
Kontrol	-	0,059	0,002
Dosis 1	-	-	0,306
Dosis 2	-	0,306	-

Dosis 1 = 40mg/mL Dosis 2 = 80 mg/mL

Tabel 3. Hasil Ekspresi Her2neu

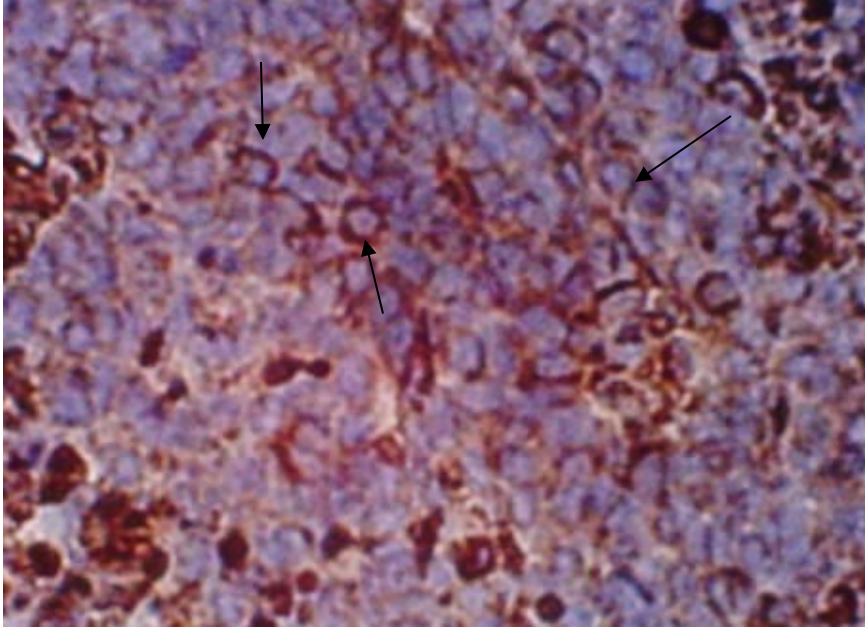
No	Kelompok	Rerata (Score)
1	Kontrol	245,40
2	Dosis 1 (40 mg/mL)	235,50
3	Dosis 2 (80 mg/mL)	51,60

Data Her2/neu di uji dengan uji *Kolmogorof Smirnov*, homogenitas diuji dengan uji Levene didapat hasil distribusi data normal ($p = 0,200$ pada semua kelompok) dan homogen ($p = 0,095$). Uji dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* didapat hasil $p = 0,000$, dilanjutkan dengan uji Pos Hoc LSD didapat hasil sebagai berikut (Tabel 4)

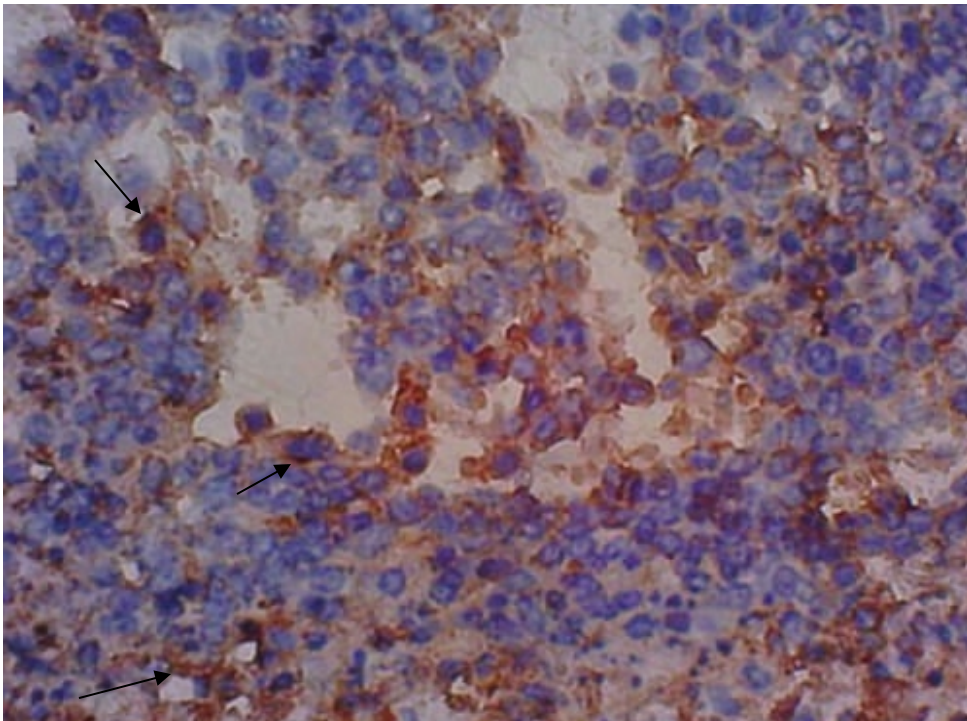
Tabel 4. Hasil Uji Pos Hoc LSD ekspresi Her2/neu

Kelompok	Kontrol	Dosis 1	Dosis 2
Kontrol	-	0,011	0,000
Dosis 1	-	-	0,000
Dosis 2	-	-	-

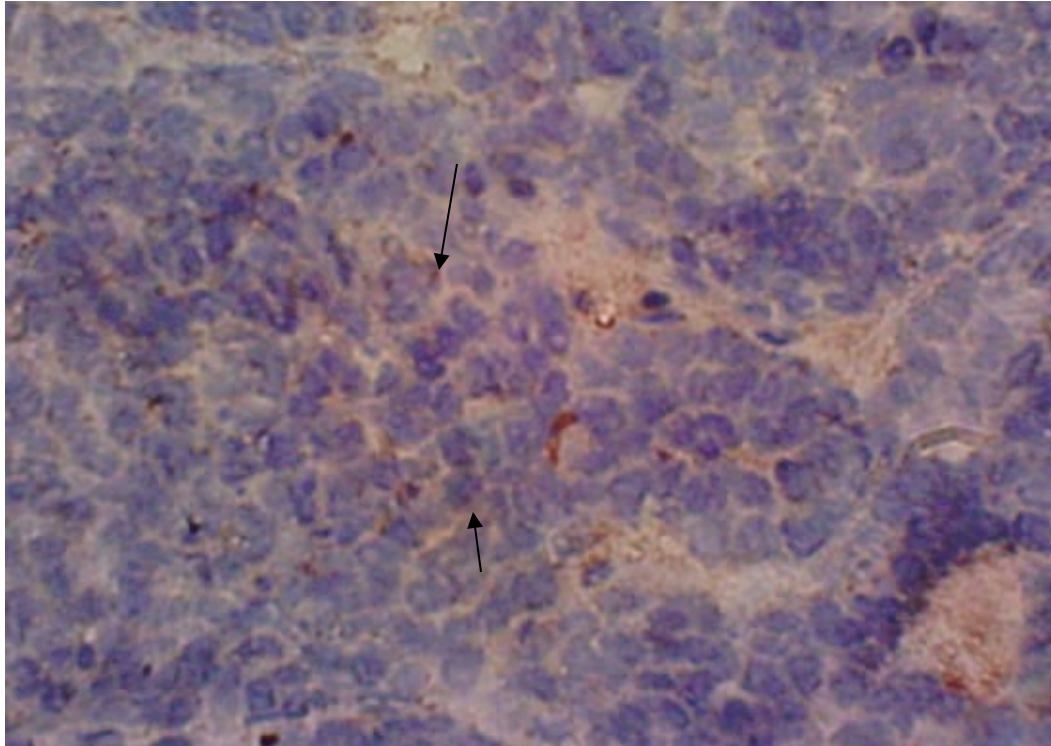
Dosis 1 = 40mg/mL Dosis 2 = 80 mg/mL



Gambar 1. Ekspresi Her2/neu kelompok Kontrol (Warna coklat pada membran sel)



Gambar 2. Ekspresi Her2/neu dosis 1 (Warna coklat pada membran sel)



Gambar 3. Ekspresi Her2/neu dosis 2 (warna coklat pada membran sel tampak tipis dan jarang)

Tabel 5. Hasil ekspresi Bcl2

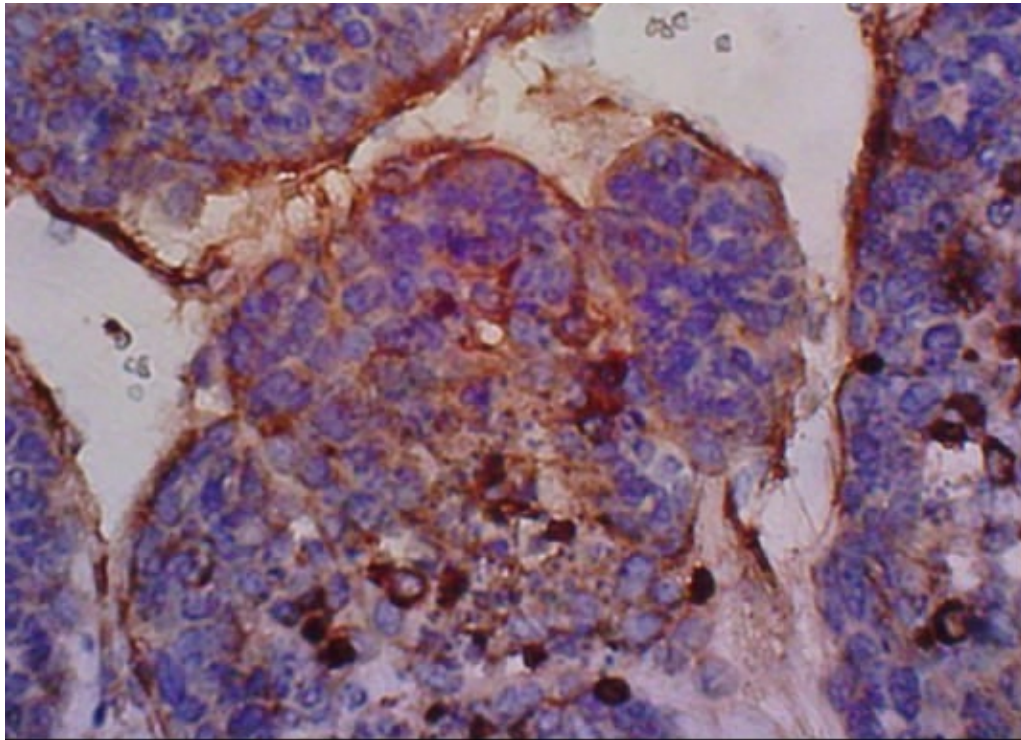
No	Kelompok	Rerata (Score)
1	Kontrol	114,40
2	Dosis 1(40 mg/mL)	54,20
3	Dosis 2(80 mg/mL)	24,6

Data Bc di uji dengan uji *Kolmogorof Smirnov*, homogenitas diuji dengan uji *Levene* didapat hasil distribusi data normal ($p = 0,200$) dan homogen ($p = 0,064$). Uji dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*, didapatkan $p = 0,000$ kemudian dilanjutkan dengan uji *Pos Hoc LSD* didapatkan hasil seperti pada Tabel 6.

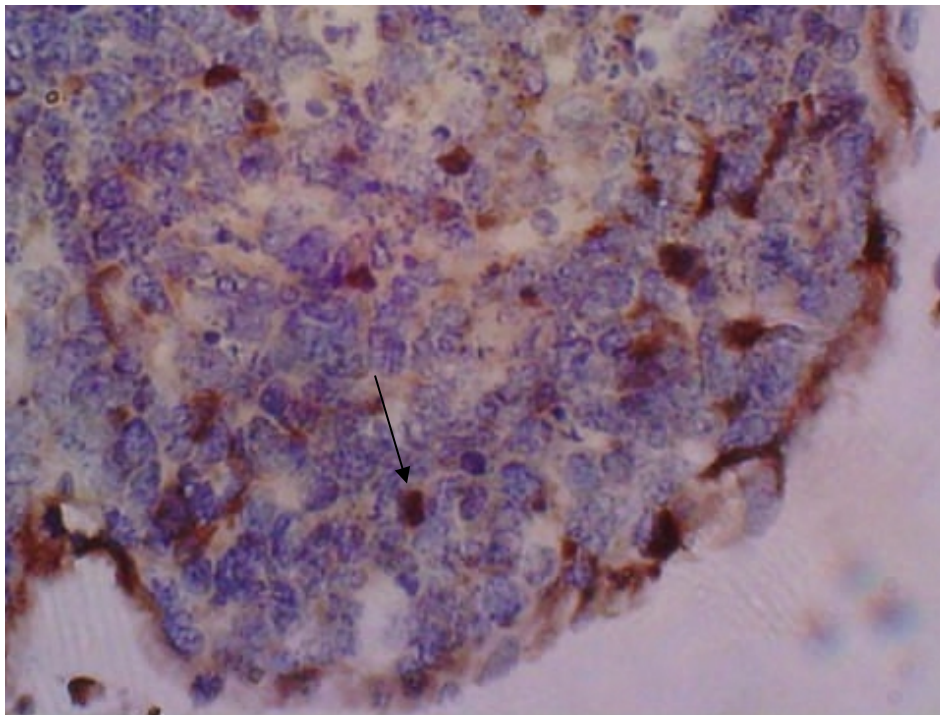
Tabel 6. Hasil Uji Pos Hoc LSD ekspresi Bcl2

Kelompok	Kontrol	Dosis 1	Dosis 2
Kontrol	-	0,000	0,000
Dosis 1	-	-	0,000
Dosis 2	-	-	-

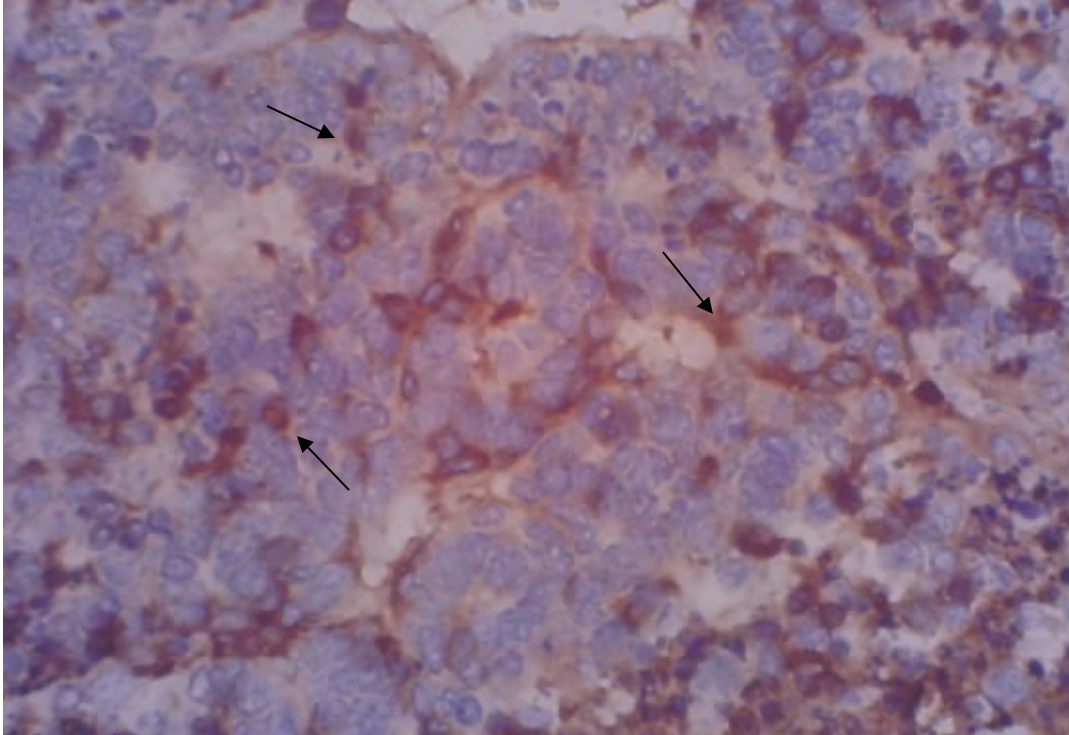
Dosis 1 = 40mg/mL Dosis 2 = 80 mg/mL



Gambar 4. Ekspresi Bcl2 kelompok Kontrol (warna coklat pada sitoplasma)



Gambar 5. Ekspresi Bcl2 kelompok Dosis 1 (warna coklat pada sitoplasma)



Gambar 6. Ekspresi Bcl 2 dosis 2 (warna coklat pada sitoplasma)

PEMBAHASAN

Ukuran volume tumor secara statistik kelompok kontrol dengan kelompok dosis 1 (40 mg/mL) dan dosis 2 (80 mg/mL) berbeda bermakna, kelompok dosis 1 dan kelompok dosis 2 sama. Secara klinik ukuran volume tumor paling besar pada kelompok dosis 2 (80 mg/mL). Sirup umbi keladi tikus yang mengandung flavonoid, dimana flavonoid sebagai anti kanker dapat menghambat pertumbuhan sel tumor, menghambat aktifitas kinase dan meningkatkan apoptosis (Kanadaswani, 2005), namun pada penelitian ini volume tumor bertambah besar seiring dengan peningkatan dosis, hal ini dimungkinkan ada faktor pertumbuhan lain yang terlibat pada proses proliferasi sel. Proses proliferasi sel melewati berbagai jalur sinyal transduksi. Protein Her2neu, terlibat pada proliferasi sel melalui protein Raf. Flavonoid diketahui dapat mendegradasi (merusak) Her2neu (reseptor EGF) dengan mekanisme yang belum diketahui (Chen C, 2008), sehingga dapat terjadi hambatan proliferasi sel. Protein HSP90 merupakan protein pendamping mengaktifkan beberapa protein yang terlibat pada proses proliferasi sel (Pearl, 2008) sehingga akan terus terjadi peningkatan proliferasi. Penelitian beberapa kultur sel dari penderita kanker payudara primer, ekspresi HSP90 dan beberapa protein sejenis yaitu Her2/neu, reseptor Estrogen, reseptor progesteron dengan menggunakan metode *Automated Quantitative Analysis* (AQUA) terdapat peningkatan ekspresi protein HSP90 secara signifikan dibandingkan dengan protein lainnya dan berhubungan dengan penurunan kelangsungan hidup penderita (Pick, 2007)

Ekspresi protein Her2/neu berbeda bermakna antar kelompok. Pada kelompok kontrol protein Her2/neu terekspresi paling banyak dan menurun seiring dengan peningkatan dosis namun secara klinik volume tumor pada kelompok dosis 1 lebih besar dari kelompok kontrol, kandungan flavonoid pada sirup umbi keladi tikus dosis 40 mg/mL dan 80 mg/ml mampu mendegradasi Her2/neu namun proliferasi sel tumor tetap berjalan, hal ini diduga terdapat protein lain yang ikut berperan pada jalur proliferasi. Protein Her2/neu berperan pada proses proliferasi melalui jalur PI3K (*Phosphatidy Inositol 3 Kinase*), MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinase*) dan Jak/ Stat (janus kinase/ *Signal Transduction Activator transcription*) (Chen C, 2008), diketahui bahwa PI3 kinase dapat dihambat oleh flavonoid.

Dalam proses proliferasi, Her2/neu mengaktifkan protein Raf, Ras, MAPK, selanjutnya mengaktifkan faktor transkripsi dan terjadi peningkatan proliferasi. Flavonoid merusak protein Her2/neu pada membran sel tumor sehingga terjadi penurunan aktifitas protein Raf, Ras, MAPK dan proses proliferasi tidak dilanjutkan ke nukleus (Chen C, 2008). Sel kanker payudara

mempunyai reseptor estrogen (ER) sekitar 70 %, reseptor estrogen terdapat pada nukleus, membran sel ataupun pada sitoplasma. ER positif pada kanker payudara berperan pada proliferasi sel. Flavonoid merupakan estrogen agonis kuat dan mempunyai aktivitas menghambat proliferasi sel tumor secara invitro, tergantung konsentrasi. Pada konsentrasi 10 nM sampai 20 microM , golongan flavonoid geinstein mempunyai aktivitas agonis estrogen kuat dan menghambat pertumbuhan sel tumor (Zava, 97; Galluzzo,2006). Golongan flavonoid lain (kaempferol dan quercetin mempunyai aktivitas agonis estrogen, namun lemah dalam penghambatan pertumbuhan sel tumor atau sebaliknya. (Zava, 97; Galluzzo 2006). Pada penelitian pemberian sirup umbi keladi tikus ini tidak memisahkan kandungan flavonoid,

Flavonoid bersifat polar bekerja pada membran sel, dimana flavonoid merusak reseptor Her2/neu sehingga ekspresi Her2 neu menjadi turun. Pada penelitian secara invitro, kultur sel kanker payudara BT474 dengan ER+ dan Her2/neu + diberi obat kombinasi Lapatinib (inhibitor tirosinkinase fosforilasi intrasel) dan Trastuzumab (inhibitor tyrosinkinase ekstrasel) namun resisten (Wang, 2011). Penghambatan pada jalur tirosinkinase saja masih belum cukup, diduga peran dari reseptor estrogen atau protein lainnya sehingga sel tetap berproliferasi.

Ekspresi Bcl 2 berbeda bermakna pada semua kelompok . Bcl2 merupakan protein anti apoptotik.Pada kelompok kontrol ekspresi Bcl2 meningkat, hal ini sesuai dengan peningkatan volume tumor. Ekspresi Bcl2 pada dosis 1(40 mg/mL) dan dosis 2 (80 mg/mL) menurun sesuai dengan peningkatan dosis, hal ini di duga peran dari flavonoid yang dapat menghambat ekspresi Bcl2. Volume tumor pada dosis 2 paling besar, namun ekspresi Bcl2 menurun. Penurunan ekspresi Bcl2 menandakan peningkatan proses apoptosis, namun terjadi pembesaran volume tumor, hal ini diduga ada protein yang berperan pada penghambatan apoptosis dan peningkatan proliferasi. Besarnya volume tumor selain oleh adanya jaringan tumor itu sendiri, di duga disekitar jaringan tumor terdapat limfonodus dan jaringan nekrotik, sehingga pengukuran volume tumor tanpa membuka kulit mencit masih secara kasar.

Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil dan pembahasan adalah bahwa: Pemberian sirup umbi keladi tikus dengan dosis 40 dan 80 mg/mL dapat menurunkan ekspresi Her2neu dan Bcl2. Namun, tidak terjadi penurunan ukuran volume tumor baik pada dosis 40 mg/mL maupun 80 mg/mL.

Saran

Mengacu pada hasil penelitian dan pembahasan sebagaimana tersebut di atas, maka dapat diajukan saran, perlu dilakukan penelitian serupa untuk melihat:

1. Reseptor estrogen
2. Protein – protein pada jalur proliferasi diantaranya protein Raf, Ras.
3. Protein – protein yang terlibat pada jalur apoptosis diantaranya protein bax, cytochrome 450
4. Uji toksik sirup umbi keladi tikus terhadap fungsi hati (kadar SGPT, SGOT), fungsi ginjal (Kadar ureum, kreatinin), gambaran histopatologi hati, ginjal dan jantung.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih pada Dra Puspita Ekawuyung, Msi dan bapak Slamet, selaku Kepala Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan tenaga pada Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia yang telah memberi ijin dan membantu pelaksanaan penelitian. Terimakasih kepada Agustin, Amd pada RS Prof dr Sardjito Yogyakarta yang telah membantu dalam pembuatan preparat Imunohistokimia, dan terimakasih kepada dr Sumarno. Sp PA, Msi yang telah membantu membaca preparat Imunohistokimia.

DAFTAR PUSTAKA

Adams JM and Cory S. The Bcl2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene*. 2007 Vol. 26. Nature Publishing Group. Australia

Arribas FM, Alvarez T, Gabriela, Garabato EM, Villar MJN, Lucas R et al. Bcl-2 Expression in Breast Cancer: a Comparative Study at the mRNA and Protein Level. *Anticancer Research*. 2007. Spain .e-mail: jose-schncide@urjc.es.

Bongen PI, Hill AD, 2000. *Breast Diseases*. Lands Bioscience. USA.

Chen C, Chen G and Chen W. Molecular Simulation of Her2/neu Degradation by Inhibiting HSP 90 α . *Journal of Chemical Society* 2008.55: 297-302.

Dimitriadis A, Gontinou C, Baxevanis CN, and Mamalaki A. The mannosylated extracellular domain of HER2/neu produced in *P. Pastoris* induces protective antitumor immunity. *BMC Cancer*. 2009 BioMed Central Ltd. Athens, Greece

Green M, Raina V. *Epidemiology, Screening and Diagnosis of Breast Cancer in the Asia Pacific Region*. Asia Pacific Journal of Clinical Oncology 2008. Black Well Publishing, Asia P. Ltd.

Galluzzo P and Marino M. Nutritional flavonoids impact on nuclear and extranuclear estrogen receptor activities. *Genes & Nutrition* 2006. Vol 1 no.3/4 p.161-176

Kumar, Cotran, Robbins. *Buku Ajar patologi*. 2007 Vol.2. 7^{ed}. EGC. Jakarta

Leonard R.C.F, Pwint TP. Therapeutic aspect of metastasis breast cancer: Chemotherapy in *Cancer Metastasis- Biology and Treatment* 11. 2007 Ed. By Mansel RE, Fodstad and Jiang WG, Springer. The Netherlands

Mohan S, Abdul AB, Abdalwahab SI, Al-Zubairi AS, Sukari MA, Abdullah R et al . Typhonium flagelliforme inhibits the proliferation of murine leukemia WEHI-3 cells invitro and induces apoptosis invivo. *Leukemia research*.2010 Elsevier ltd. Malaysia

Normanno, Luca AD, Maiello MR, Campiglin M, Napolitano M, Mancino M, et al . MEP/MAPK pathway involved in bc resistance to iressa. *J. Cell Physiol*.2006 Italy

Pearl LH, Prodromou C. Structure and Mechanism of the Hsp90 molecular chaperon. *Annu Rev* 2008 *Biochem* 75: 271- 94

Pick E, Kluger Y, Giltane JM, Moeder C, Camp RL, Rinn D et al. High HSP90 expression is Associated with Decreased Survival in Breast Cancer. The Journal of Cancer Research.2007 American Assosiated for Cancer Research.

Schuell B, Gruenberger T,Scheithauer, Zielinski CH. HER2/neu protein expression in colorectal cancer. BMC Cancer 2006 BioMed Central Ltd. Austria

Tjindarbumi D, Mangunkusumo R, 2002. Cancer in Indonesia, Present and Future. Jpn J.Clin Oncol.

Wang Yc, Moraison G, Gilihan R, Guo J, Ward R, Fu X et al. Different mechanisms for resistance to trastuzumab versus laptinip in HER-2 positif breast cancer rule of estrogen receptor and HER-2 reactivation. Breast Cancer Research.2011 13: R121

Weinberg RA. The biology of Cancer. Garland Science. USA 2007

Zava D, Duwe G. Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoid in human breast cancer cells invitro. Nutr Cancer 1997; 27(1):31-40