

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK TEMULAWAK TERHADAP INDEKS
APOPTOSIS ADENOKARSINOMA MAMMAE SECARA *in vivo*
Studi Eksperimental Mencit galur C3H yang Diinokulasi Sel Adenokarsinoma
Mammae**

Ahmad Afianto¹, Sumarno², Hadi Sarosa³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

²Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

³Bagian Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

ABSTRAK

Temulawak merupakan tanaman herbal. Kandungannya terdiri dari minyak atsiri, fraksi pati dan kurkumin. Penelitian secara invitro menunjukkan ekstrak temulawak meningkatkan indeks apoptosis pada adenokarsinoma mammae. Namun, penelitian ekstrak temulawak terhadap indeks apoptosis adenokarsinoma mammae secara *in vivo* belum banyak dilakukan. Tujuan penelitian ini membuktikan pengaruh ekstrak rimpang temulawak terhadap indeks apoptosis adenokarsinoma mammae secara *in vivo*. Penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*, menggunakan hewan coba mencit C3H sebanyak 24 ekor yang telah diinokulasi jaringan tumor, kemudian bagi menjadi 4 kelompok secara random. Kelompok kontrol diberikan pakan standart, kelompok perlakuan 1 ditambahkan ekstrak temulawak 6 mg/hari, kelompok perlakuan 2 ditambahkan 9 mg/hari, kelompok perlakuan 3 ditambahkan 12 mg/hari. Pada setiap kelompok dilakukan penilaian indeks apoptosis dengan metode Aihara *et al.* Untuk membedakan indeks apoptosis antar berbagai kelompok perlakuan digunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil rerata indeks apoptosis pada kelompok kontrol ($1,5 \pm 0,707$), kelompok perlakuan 1 ($2,3 \pm 0,52$), kelompok perlakuan 2 ($3,3 \pm 0,50$), dan kelompok perlakuan 3 ($3,2 \pm 0,88$). Terdapat perbedaan secara bermakna indeks apoptosis adenokarsinoma mammae antar berbagai kelompok ($p=0,001$). Uji Mann-Whitney menunjukkan terdapat perbedaan secara bermakna indeks apoptosis antar kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1, kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 2, kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 3 dan kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 2 menunjukkan $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna. Sedangkan kelompok perlakuan 1 dengan kelompok perlakuan 3 dan kelompok perlakuan 2 dengan kelompok perlakuan 3 menunjukkan $p > 0,05$; menunjukkan tidak adanya perbedaan secara bermakna. Pemberian ekstrak temulawak secara *in vivo* meningkatkan indeks apoptosis adenokarsinoma mammae. Terdapat peningkatan indeks apoptosis yang signifikan pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 9 mg/hari.

Kata Kunci : Adenokarsinoma Mammae, Ekstrak Temulawak, Indeks apoptosis

ABSTRACT

Ginger is a herbal plant. Abortion consists of essential oils, starch fraction and curcumin. Previous research shows ginger extract increased apoptotic index in mammary adenocarcinoma in vitro. The purpose of this study prove the effect of ginger rhizome extract on apoptosis index in vivo mammary adenocarcinoma. Research laboratory experimental design with post test only control group design, using experimental animals were 24 C3H mice tails that have been inoculated tumor tissue, then divide into 4 groups randomly. The control group given standard feed, the treatment group added a ginger extract 6 mg / day, treatment group 2 is added to 9 mg / day, treatment group 3 added 12 mg / day. In each group the apoptotic index assessed by method of Aihara et al. To distinguish apoptotic index between the different treatment groups used Kruskal-Wallis test. The results mean apoptotic index in the control group (1.5 ± 0.707), a treatment group (2.3 ± 0.52), treatment group 2 (3.3 ± 0.50) and three treatment groups (3.2 ± 0.88). There are significant differences in apoptotic index of mammary adenocarcinoma among various groups ($p=0.001$). Mann-Whitney test showed there were significant differences in apoptotic index between the control group with treatment group 1, control group with treatment group 2,

control group with treatment group 3 and group treatment 1 with treatment group 2 showed $P < 0.05$; indicated that there were meaningful. While the treatment group 1 with group 3 and group treatment 2 with treatment group 3 shows $P > 0.05$; showed no significant differences. The extract of ginger in vivo increased apoptosis index mammary adenocarcinoma. There is a significant increase in apoptotic index in treatment group 2 with a dose of 9 mg / day.

Keywords: *mammary adenocarcinoma, Ginger Extract, apoptotic index*

PENDAHULUAN

Rimpang temulawak (*C. Xanthorrhiza* Roxb) merupakan jenis rimpang yang sering digunakan untuk pengobatan herbal. Kandungan aktifnya terdiri dari fraksi pati, fraksi kurkumin, dan minyak atsiri (Suhermina, 2007). Penelitian yang dilakukan oleh Cheah (2008) di Kuala Lumpur, pengaruh ekstrak temulawak terhadap indeks apoptosis sel adenokarsinoma mammae secara in vitro mendapatkan kesimpulan bahwa ekstrak temulawak mampu menginduksi apoptosis pada sel adenokarsinoma mammae dan menurunkan regulasi protein anti-apoptosis seperti (Bcl-2 dan Bcl-XI) melalui senyawanya yaitu kurkumin. Tetapi sampai saat ini belum ada yang menjelaskan tentang pengaruh pemberian ekstrak temulawak terhadap indeks apoptosis adenokarsinoma mammae secara in vivo (Aggrawal, 2003).

Innduksi terhadap apoptosis merupakan mekanisme yang paling potensial dalam melawan adenokarsinoma mammae. Hal ini dikarenakan sel-sel yang mengalami mutasi atau kerusakan secara genetik dari jaringan tubuh dapat dieliminasi melalui mekanisme apoptosis. Sementara mekanisme yang lain seperti penekanan terhadap proliferasi yang tidak terkendali hanya dapat memperlambat pertumbuhan kanker. Disamping itu insiden kanker payudara semakin meningkat dari tahun ke tahun (Johnson, 2001). Penelitian ingin mengetahui tentang rimpang temulawak berpengaruh pengobatan kanker payudara melalui mekanisme induksi apoptosis sel adenokarsinoma mammae secara in vivo.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Alat yang digunakan meliputi cawan petri ukuran 6 cm, cawan petri ukuran 15 cm, cawan ukuran 10 cm, spuit 1 cc, jarum suntik trocar, gunting lurus 10 cm, gunting bengkok 10 cm, pinset anatomi 10 cm, alas fiksasi, kandang tikus, timbangan, mikroskop dan oven, gelas ukur dan pengaduk dari kaca, alat pemotong jaringan (mikrotom), kaca obyek dan deck glass, pencetak blok

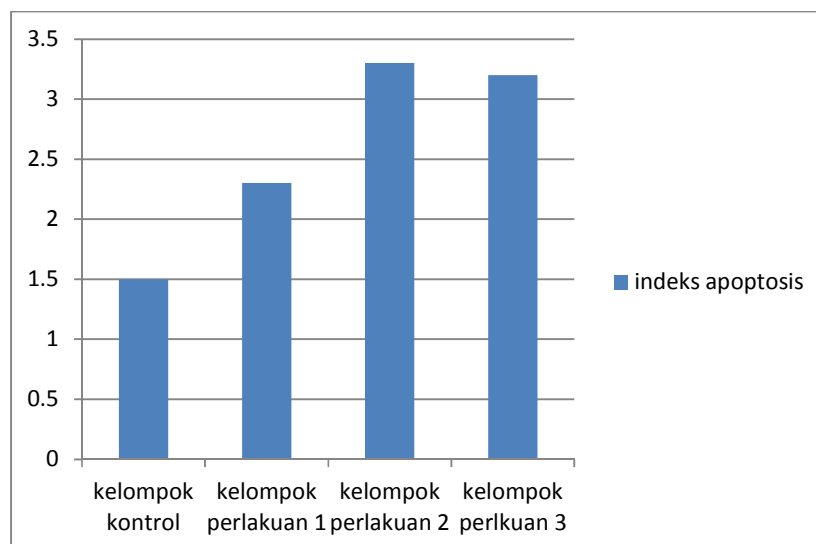
jaringan dan tabung penyimpanan. Bahan yang digunakan meliputi alkohol 70 %, larutan garam fisiologik, es batu, mencit donor bertumor, mencit resipien, zat pewarna hematoksilin eosin dan larutan emersi, alkohol 70%, 85%, 90%, 100%, karbol xylol, xylol lilin, dan xylol pembersih, formalin, aceton, parafin cair dan balsem kanada, larutan zoutzure 70% yang dibuat dengan campuran alkohol 100%.

Penelitian dilakukan secara eksperimen dengan menggunakan hewan uji berupa mencit strain C3H sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 4 kelompok uji secara acak. Kelompok penelitian tersebut antara lain:

- Kelompok Kontrol (K): mencit C3H diinokulasi jaringan tumor, setelah timbul benjolan tidak mendapat ekstrak temulawak.
- Kelompok Perlakuan 1 (P1): mencit C3H diinokulasi jaringan tumor, setelah timbul benjolan mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 6 mg/hari yang diencerkan dalam aquabidest hingga konsentrasi 0,1 mg/mL.
- Kelompok Perlakuan 2 (P2): mencit C3H diinokulasi jaringan tumor, setelah timbul benjolan mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 9 mg/hari yang diencerkan dalam aquabidest hingga konsentrasi 0,1 mg/mL.
- Kelompok Perlakuan 3 (P3): mencit C3H diinokulasi jaringan tumor, setelah timbul benjolan mendapat ekstrak temulawak dengan dosis 12 mg/hari yang diencerkan dalam aquabidest hingga konsentrasi 0,1 mg/mL.

HASIL PENELITIAN

Rerata indeks apoptosis tiap kelompok disajikan pada **Tabel 1**. Kelompok kontrol yang tidak diberikan ekstrak temulawak menunjukkan indeks apoptosis yang rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 yang masing-masing diberi ekstrak temulawak dengan dosis 6, 9 dan 12 mg/hari. Pada kelompok perlakuan 2 dengan pemberian dosis 9 mg/hari menunjukkan indeks apoptosis yang meningkat dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 3.



Gambar 1. Rerata indeks apoptosis tiap kelompok

Hasil uji normalitas Shapiro-wilk menunjukkan sebaran data kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 2 berdistribusi normal ($p > 0,05$); sedangkan sebaran data kelompok perlakuan 3 tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$). Pada uji homogenitas levene statistic menunjukkan bahwa ($p > 0,05$); menunjukkan data homogenitas. Untuk membedakan indeks apoptosis antar berbagai kelompok kontrol dan perlakuan digunakan uji Kruskal-Wallis. Ada perbedaan Indeks apoptosis pada berbagai kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Untuk mengetahui adanya perbedaan indeks apoptosis antar dua kelompok diuji dengan Mann-Whitney.

Pada uji Mann-Whitney kelompok kontrol dengan perlakuan 1, kelompok kontrol dengan perlakuan 2, kelompok kontrol dengan perlakuan 3, dan kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2 menunjukkan $P < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna. Sedangkan kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 3 dan kelompok perlakuan 2 dengan perlakuan 3 menunjukkan ($P > 0,05$); menunjukkan tidak adanya perbedaan secara bermakna.

PEMBAHASAN

Indeks apoptosis meningkat pada pemberian ekstrak temulawak selama 3 minggu dengan dosis yang berbeda-beda yaitu 6 mg/hari, 9 mg/hari, dan 12 mg/hari. Nilai rerata disajikan dalam lampiran 2. Pada kelompok kontrol nilai reratanya ($1,5 \pm 0,70$), pada kelompok perlakuan 1 pemberian dosis 6 mg/hari ($2,3 \pm 0,52$), pada

kelompok perlakuan 2 pemberian dosis 9 mg/hari ($3,3 \pm 0,50$), pada kelompok perlakuan 3 pemberian dosis 12 mg/hari ($3,2 \pm 0,88$). Pada kelompok perlakuan 2 dengan dosis 9 mg/hari menunjukkan rerata indeks apoptosis yang paling tinggi ($3,3 \pm 0,50$) dibandingkan dengan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 3.

Berdasarkan hasil uji Kruskal-Wallis didapatkan nilai ($p < 0,05$); menunjukkan adanya perbedaan secara bermakna indeks apoptosis jaringan adenokarsinoma mammae antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak temulawak meningkatkan indeks apoptosis adenokarsinoma mammae secara *in vivo*.

Penelitian menunjukkan ekstrak temulawak dapat menginduksi apoptosis melalui jalur mitokondria pada sel hepatoma HepG2 secara *in vitro*, p53 akan meningkat pada pemberian temulawak, p53 menginduksi protein pro-apoptosis bax sehingga proses apoptosis akan terjadi pada jalur intrinsik (*Dependent mitochondria*), dan p53 secara langsung akan meningkatkan ekspresi p21CIP1 yang penting untuk menghambat aktifitas CDKs, sehingga sel kanker tidak dapat memasuki fase siklus sel selanjutnya (Handayani *et al.*, 2007). Induksi apoptosis oleh zat aktif kurkumin pernah dilaporkan pada kanker sel darah putih (*leukimia cells*), kurkumin (*a hydrophobic molecule*) mampu dengan mudah menembus dan melewati membran sel untuk kemudian menuju struktur membran yang berlemak seperti mitokondria dan inti sel. Kurkumin mampu meningkatkan ekspresi protein p53, ikatan antara p53 dengan DNA yang mengalami kerusakan, kurkumin juga menginduksi protein Bax melalui aktivasi p53 (Joong, 2001). Hasil penelitian Cheah 2008 di Kuala Lumpur, pengaruh ekstrak temulawak (*Curcuma Xantorizza*) terhadap indeks apoptosis sel adenokarsinoma mammae secara *in vitro* mendapatkan kesimpulan bahwa ekstrak temulawak mampu menginduksi apoptosis pada sel adenokarsinoma mammae dan menurunkan regulasi protein anti-apoptosis seperti (Bcl-2 dan Bcl-Xl) melalui zat aktifnya yaitu kurkumin. Setelah pemberian kurkumin, p53 akan meningkat dan tingkat Bcl-Xl dalam kanker payudara akan menurun. Disisi lain level dari protein Bax meningkat secara signifikan setelah pemberian kurkumin (Tathagata, 2002).

Apoptosis memiliki peran yang sangat besar dalam menghambat adenokarsinoma mammae (Taraphdar *et al.*, 2001). Adenokarsinoma mammae berasal

dari jaringan epitel kelenjar payudara sangat dipengaruhi oleh faktor hormonal dan genetik. Estrogen merupakan hormon yang paling berperan, jalur perangsangan 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).

Faktor hormonal dan genetik adenokarsinoma mammae telah terbukti pada mencit C3H yang 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).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak temulawak berpengaruh meningkatkan indeks apoptosis jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H secara *in vivo*. Pemberian ekstrak temulawak dengan dosis 6 mg/hari, 9 mg/hari, dan 12 mg/hari, selama tiga minggu berpengaruh meningkatkan indeks apoptosis jaringan adenokarsinoma mammae pada mencit C3H secara *in vivo*.

SARAN

Untuk penelitian lebih lanjut menggunakan pewarnaan sel yang berbeda dengan peneliti yang menggunakan Haematoxylin & Eosin. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan sampel satu jenis kelamin untuk mengetahui pengaruh ekstrak temulawak terhadap indeks apoptosis adenokarsinoma mammae secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, B.B., Kumar, A., Bharti A.C., 2003, *Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies*, *Anticancer Research* 23: 363-398.
- 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.
- Cheah, Y.H., Nordin, F.J., Tee, T.T., Azimahtol, H.L.P., Abdullah, N.R., Ismail, Z., 2008, Effect of Xanthorrhizol on MDA-MB-231 Breast Cancer Cells, *Anticancer Research*, 28, 3677-3689.

- Handayani, T., Sakinah, S., Nallappan, M., Pihie, A.H.L., 2007, Regulation p53-, Bcl-2- and Caspase-dependent Signaling Pathway in Xanthorrizol-induced Apoptosis in HepG2 Hepatoma Cells, *Anticancer Research*, 27, 965-971.
- Suhermina, E., 2007, *Mari Bertanam Toga*, Sinergi Pustaka Indonesia, Bandung, 14-16.
- Joong, S.S., Hyung, J.Lee., Sang, S.P., Bong, G.C., Hae, R.C., 2001, Curcumin-Induced Apoptosis of A-431 Cells Involves Caspase-3 Activation, 34, 189-193.
- Taraphdar, A.K., Roy, M., dan Bhatacarrya, R.K., 2001, Natural product as inducers of apoptosis: *Implication for cancer theraphy and prevention*. *Curr Sci*. 80(11):1387-1396.
- Tathagata, C., Aggarwal, B.B., Kumar, A., Bharti, A.C., 2003, *Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies*, *Anticancer Research*, 23, 362-398.