

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK LENGKUAS (*Alpinia galanga*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGIK PAYUDARA MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI benzo(a)pyrene

¹Raymon Liangan

²Carla Kairupan

²Meilany Durry

¹Kandidat Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi

²Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi

E-mail: raymonliangan94@gmail.com

Abstract: Galangal (*Alpinia galanga*) is one of the plants that is often used for cancer therapy. Galangal contains different active ingredients, one of which is 1 'acetoxyl chavicol acetate (ACA) which serves as an anticancer through its action as an anti-inflammatory agent, induction of apoptosis and inhibition of proliferation. Benzo(a)pyrenes (BAP) are five-ringed Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), a group of mutagenic and carcinogenic organic compounds. This study aimed to determine the effect of galangal extract on histological features of mice's breast induced by benzo(a)pyrene. This was an experimental laboratory study using mice as experimental animals. Subjects were 15 mice, divided into negative control group (5 mice) and two treatment groups (5 mice each). All mice were fed with standard pellet throughout the experiment. Mice in group A (negative control) received no treatment; mice in group B were administered with benzo(a)pyrene for 14 days then were given no treatment for the next 14 days; and mice in group C were induced by benzo(a)pyrene and were given galangal extract for 14 days then were given no treatment for the next 14 days. The result of this study revealed changes in mice breast histological features in the form of hyperplasia of cuboid epithelial cells of lactiferous ducts in group B and C, however the manifestation in group C was less pronounced than that was seen in group B. **Conclusion:** Oral administration of galangal extract subcutaneously was able to inhibit the cuboidal ductal lactiferous epithelial cell hyperplasia of mice breast induced by benzo(a)pyrene.

Keywords: breast, benzo(a)pyrene, galangal extract

Abstrak: Lengkuas (*Alpinia galanga*) merupakan salah satu tanaman yang sering digunakan untuk terapi kanker. Lengkuas mengandung berbagai bahan aktif, salah satunya 1' *acetoxyl chavicol acetate* (ACA), yang berkhasiat sebagai antikanker melalui kerjanya sebagai antiinflamasi, menginduksi apoptosis dan menghambat aktivitas proliferasi. *Benzo(a)pyrene* (BaP) adalah anggota Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) bercincin lima yang merupakan kelompok senyawa organik yang bersifat mutagenik dan karsinogenik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak lengkuas terhadap gambaran histologik payudara mencit yang diinduksi dengan *benzo(a)pyrene*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan menggunakan mencit sebagai hewan coba. Subjek penelitian yang digunakan yaitu 15 ekor mencit yang dibagi atas satu kelompok kontrol negatif (5 ekor) dan dua kelompok perlakuan (masing-masing 5 ekor). Semua hewan uji diberi makan pelet standard selama penelitian. Mencit kelompok A (kontrol negatif) tidak diberi perlakuan selama 28 hari, kelompok B diinduksi *benzo(a)pyrene* selama 14 hari lalu tidak diberi perlakuan selama 14 hari berikutnya dan kelompok C diinduksi *benzo(a)pyrene* dan diberikan ekstrak lengkuas selama 14 hari lalu tidak diberi perlakuan selama 14 hari berikutnya. Hasil penelitian menunjukkan adanya perubahan gambaran histologik payudara mencit berupa

hiperplasia sel epitel kuboid dari duktus laktiferi pada kelompok B dan C, namun hiperplasia tampak lebih sedikit pada kelompok C dibandingkan yang terlihat pada kelompok B. **Simpulan:** Pemberian ekstrak lengkuas secara oral pada mencit yang payudaranya diinduksi *benzo(a)pyrene* secara subkutan terbukti dapat menghambat hiperplasia sel-sel epitel kuboid duktus laktiferi payudara.

Kata kunci: payudara, *benzo(a)pyrene*, ekstrak lengkuas.

Saat ini penyakit tidak menular, termasuk kanker menjadi masalah kesehatan utama di dunia maupun di Indonesia. Menurut data World Health Organization (WHO) tahun 2013, insiden kanker meningkat dari 12,7 juta kasus pada tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus pada tahun 2012 dan jumlah kematian akibat kanker meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Kanker menjadi penyebab kematian nomor 2 di dunia (sebesar 13%) setelah penyakit kardiovaskular.¹ Di Indonesia, prevalensi penyakit kanker juga cukup tinggi. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013, prevalensi tumor/kanker di Indonesia adalah 1,4 per 1000 penduduk, atau sekitar 330.000 orang.² Kasus kanker tertinggi pada perempuan di Indonesia ialah kanker payudara dan kanker leher rahim. Berdasarkan estimasi Globocan, *International Agency for Research on Cancer* (IARC) tahun 2012, insiden kanker payudara sebesar 40 per 100.000 perempuan.¹

Penyebab pasti kanker payudara belum diketahui, biasanya bersifat multifaktorial antara lain genetik, hormonal dan lingkungan. Kebiasaan hidup yang berpengaruh besar dalam kejadian kanker antara lain merokok. Asap rokok diketahui mengandung lebih dari 20 jenis karsinogen yang telah diketahui, salah satunya yaitu *benzo(a)pyrene*. *Benzo(a)pyrene* (BaP) adalah anggota Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) bercincin lima yang merupakan kelompok senyawa organik yang bersifat mutagenik dan karsinogenik. Senyawa ini juga merupakan produk dari pembakaran tidak sempurna pada bahan makanan (daging, ikan, dll) dengan suhu 300°C dan 600 °C.^{3,4,5}

Beberapa penelitian bahan alam mulai diarahkan pada agen kemoterapi dengan tujuan meningkatkan sensitifitas, menekan resistensi sel kanker dan mengurangi efek samping yang ditimbulkan oleh agen kemoterapi.⁶ Salah satu tanaman yang sering digunakan untuk terapi kanker yaitu lengkuas (*Alpinia galanga*). Lengkuas mengandung berbagai bahan aktif, antara lain *Acetoxy Chavicol Acetate* (ACA). *Acetoxy chavicol acetate* mempunyai aktivitas anti kanker dan antioksidan pada siklus sel kanker manusia dan mencit yang ditransplantasi dengan sel tumor primer. Penghambatan yang terjadi diduga karena peningkatan apoptosis dan penurunan aktifitas proliferasi sel. Penghambatan ini dipengaruhi oleh jenis, usia dan konsentrasi ekstrak lengkuas. Ternyata menurut penelitian (Hartono,2009)⁷ ekstrak lengkuas dengan dosis 225 mg/kgBB/hari sudah menunjukkan peningkatan indeks apoptosis dan penurunan aktifitas proliferasi sel, maka dosis tersebut dapat digunakan untuk terapi adjuvan pada kanker.⁷

Berdasarkan uraian di atas maka dipandang perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian lengkuas sebagai pencegahan (*chemoprevention*) terhadap perkembangan kanker payudara. Penelitian ini dilakukan pada mencit yang diinduksi dengan *benzo(a)pyrene* pada daerah sekitar payudara dan diberikan ekstrak lengkuas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan sejak bulan Oktober 2014 sampai bulan Januari 2015 di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi dengan menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorik. Subjek penelitian yang digunakan adalah 15 ekor

mencit yang dibagi menjadi satu kelompok kontrol negatif (5 ekor) dan dua kelompok perlakuan (masing-masing 5 ekor). Mencit dalam penelitian ini dibagi atas 3 kelompok yaitu, kelompok A (kelompok kontrol negatif) hanya diberikan makanan berupa pelet selama 28 hari kemudian dieksisi payudara mencit pada hari ke-29, kelompok B (kelompok perlakuan 1) yang diinduksi dengan benzo(a)pyrene dengan dosis 0,3 ml/ekor/hari didaerah sekitar payudara mencit selama 14 hari kemudian dieksisi payudara mencit pada hari ke-29 dan kelompok C (kelompok perlakuan 2) yang diinduksi dengan benzo(a)pyrene dengan dosis 0,3 ml/ekor/hari didaerah sekitar payudara mencit dan diberikan ekstrak lengkuas dengan dosis 4,5 mg/ekor/hari selama 14 hari kemudian dieksisi payudara mencit pada hari ke-29. Penilaian gambaran histopatologik payudara mencit berdasarkan pada perbandingan gambaran histopatologik payudara mencit antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan kemudian antara kelompok perlakuan.

Prosedur Penelitian

Penginduksian Benzo(a)pyrene

Larutan *benzo(a)pyrene* dibuat dengan cara melarutkan serbuk *benzo(a)pyrene* dalam minyak zaitun dengan perbandingan 1:1 (1 mg *benzo(a)pyrene* dan 1 ml minyak zaitun). Dosis larutan *benzo(a)pyrene* yang digunakan yaitu 0,3 ml/ekor/hari, disuntikkan secara subkutan di daerah sekitar payudara selama 14 hari.⁸

Pemberian Ekstrak Lengkuas

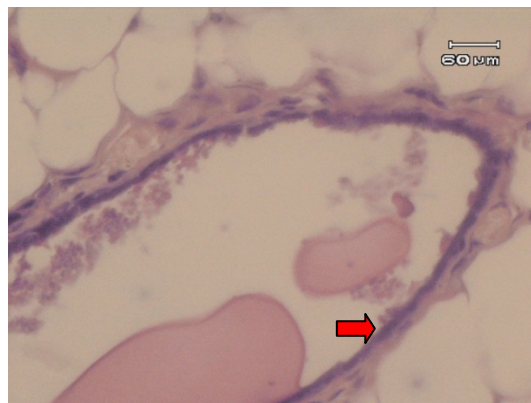
Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat. Dosis diberikan sebanyak 4,5 mg/ekor/hari ekstrak dalam 0,3 ml larutan CMC 1 %/ekor, ekstrak diberikan secara oral.

HASIL PENELITIAN

Kelompok A (Kontrol Negatif)

Gambaran mikroskopik payudara mencit kontrol negatif (tanpa perlakuan) sesuai dengan gambaran yang normal.

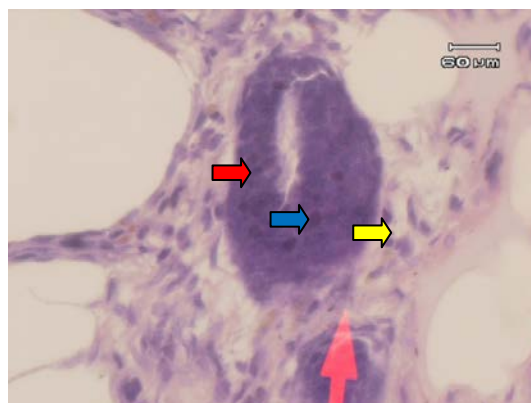
Dengan menggunakan pewarnaan HE terlihat gambaran histologik normal payudara mencit berupa duktus laktiferi yang dilapisi 1-2 lapis sel epitel kuboid atau epitel kolumnar rendah, jaringan ikat longgar dan jaringan adipose (Gambar 1).



Gambar 1. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok A (kontrol negatif). Tampak 1-2 lapis sel epitel kuboid yang melapisi duktus laktiferi (panah merah). Pembesaran 10x40.

Kelompok B (Perlakuan 1)

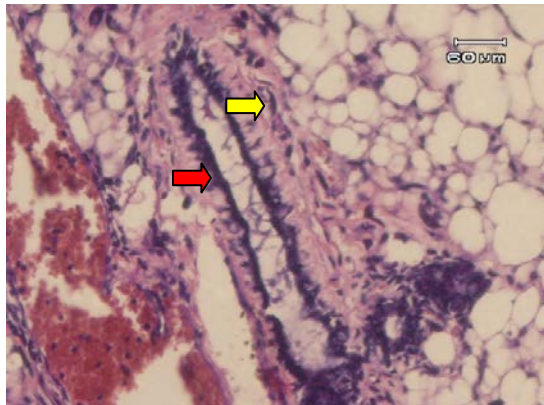
Gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* menunjukkan adanya hiperplasia sel epitel kuboid yang melapisi duktus laktiferi (>4 lapis sel) dan sel-sel radang PMN pada jaringan ikat longgar. Sel-sel epitel kuboid tampak memiliki inti dengan kromatin kasar (Gambar 2).



Gambar 2. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok B (perlakuan 1) yang diinduksi *benzo(a)pyrene*. Tampak hiperplasia sel epitel kuboid (panah merah), kromatin inti kasar (panah biru) dan sel-sel radang PMN pada jaringan ikat (panah kuning). Pembesaran 10x40.

Kelompok C (Perlakuan 2)

Gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* dan diberikan ekstrak lengkuas menunjukkan hiperplasia sel epitel kuboid yang melapisi dinding duktus laktiferi (3-4 lapis sel), sel-sel epitel kuboid dengan kromatin inti kasar dan sel-sel radang PMN pada jaringan ikat longar (Gambar 3).



Gambar 3. Gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok C (perlakuan 2) diinduksi *benzo(a)pyrene* dan diberikan ekstrak lengkuas. Tampak hiperplasia sel epitel kuboid (panah merah) dan sel-sel radang PMN (panah kuning) pada jaringan ikat longar. Pembesaran 10x10.

BAHASAN

Benzo(a)pyrene adalah salah satu jenis senyawa Polisiklik Aromatik Hidrokarbon (PAH) yang memiliki lima cincin aromatis serta bersifat mutagenik dan sangat karsinogenik. Molekul *PAH benzo(a)pyrene* dapat dengan mudah menyisipkan diri pada untaian DNA dan menyebabkan kerusakan DNA dan selanjutnya memicu pertumbuhan kanker. Lengkuas merupakan tumbuhan yang memiliki banyak khasiat, satu diantaranya yaitu mempunyai aktivitas anti kanker pada siklus sel kanker. Senyawa yang diduga memiliki potensi sebagai anti kanker pada ekstrak lengkuas ialah *Acetoxy Chavicol Acetat (ACA)*.^{7,12}

Pada penelitian yang dilakukan ini dapat dilihat dari gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari (Kelompok B – Perlakuan 1) adanya hiperplasia epitel kuboid pada duktus laktiferi sehingga dinding duktus menjadi

tebal (>4 lapis sel epitel). Hal ini dapat terjadi karena *benzo(a)pyrene*, sebagai suatu senyawa *PAH* memiliki sifat yang hidrofobik dan tidak memiliki gugus metil atau gugus reaktif lainnya untuk dapat diubah menjadi senyawa yang lebih polar. Sebagai akibatnya, senyawa *PAH* sangat sulit diekskresi dari dalam tubuh dan biasanya terakumulasi pada jaringan hati, ginjal, maupun adiposa atau lemak tubuh. Karena struktur molekul yang menyerupai basa nukleat (adenosin, timin, guanin, dan sitosin), molekul *PAH* dapat dengan mudah menyisipkan diri pada untaian DNA dan merusak DNA sehingga fungsi DNA akan terganggu. Apabila kerusakan ini tidak dapat diperbaiki dalam sel, maka jaringan setempat pada tingkat gen akan kehilangan kendali normal atas pertumbuhannya.^{10,11}

Perubahan pada gambaran mikroskopik payudara mencit yang diinduksi *benzo(a)pyrene* kemudian diberikan ekstrak lengkuas, secara jelas terlihat bahwa hiperplasia epitel kuboid dari duktus laktiferi tidak sebanyak yang terlihat pada payudara mencit kelompok B (Perlakuan 2). Sehingga disimpulkan bahwa pemberian ekstrak lengkuas dosis 4,5 mg/ekor/hari secara oral setelah mencit diinduksi *benzo(a)pyrene* 0,3 mg/ekor/hari subkutan pada payudara dapat menghambat hiperplasia dan mengurangi sel-sel epitel kuboid dari duktus laktiferi. Dinding duktus tampak lebih tipis (terdiri dari 3-4 lapis sel epitel kuboid) dibandingkan dengan yang tampak pada gambaran mikroskopik payudara mencit kelompok B (perlakuan 1). Hal ini diduga berkaitan dengan peran dari ekstrak lengkuas yang mengandung *ACA* sebagai anti kanker. Kandungan *ACA* pada lengkuas dapat meningkatkan apoptosis dan menurunkan aktivitas proliferasi. *Acetoxy Chavicol Acetat* dapat meningkatkan apoptosis melalui aktivasi *caspase-3*. Caspase adalah enzim pemecah protein oleh satu golongan protease yang dapat mengakibatkan apoptosis selular. Di samping itu, *ACA* juga mempunyai efek menghambat *NF-κB* (*nuclear factor-kappa B*). Bila *NF-κB*

teraktivasi maka akan terjadi penekanan apoptosis dan gangguan proliferasi.⁷

Pada gambaran mikroskopik payudara juga tampak sel-sel epitel kuboid abnormal yaitu memiliki kromatin inti kasar pada mencit kelompok B dan C. Hiperplasia sel epitel disertai kromatin inti yang kasar merupakan tanda awal dari pertumbuhan kanker. Kromatin terutama terdiri atas pilinan untai DNA yang terikat pada protein basa yang disebut histon dan pada berbagai protein unihiston. Pola kromatin suatu inti sel dianggap sebagai panduan aktivitas sel terkait. Inti yang terpulas gelap dan kaya akan elektron dan tampak sebagai gumpalan basofilik (heterokromatin) yang sangat terkondensasi gulungan DNA yang erat, kurang mudah diakses untuk transkripsi.¹³ Pada kelompok C terjadi pengurangan hiperplasia epitel kuboid diduga karena ada peningkatan aktivitas apoptosis oleh senyawa ACA, dan peningkatan fagositosis oleh makrofag pada sel epitel yang memiliki inti dengan kromatin kasar.

Pada gambaran mikroskopik juga tampak adanya sel-sel radang PMN di jaringan ikat payudara mencit kelompok perlakuan 1 dan 2. Campuran senyawa karsinogenik *benzo(a)pyrene* dan minyak zaitun yang masuk ke dalam tubuh akan dikenali sebagai benda asing dan tubuh akan memberikan respon perlawanan terhadap benda asing tersebut. Perlawanan pertama oleh tubuh yaitu dengan mengirimkan sel-sel pertahanan (PMN, leukosit, TNF, Sitokin IL-1, IL-6,) ke tempat yang terpapar benda asing sebagai respon imunitas seluler.⁹

Relevan dengan hasil penelitian Hartono(2009)⁷, penelitian yang dilakukan ini telah membuktikan bahwa lengkuas dapat menghambat proliferasi epitel duktus laktiferi payudara mencit yang diinduksi dengan *benzo(a)pyrene*. Disadari bahwa hasil penelitian ini akan memberikan hasil yang lebih baik dalam menunjang perkembangan ilmu pengetahuan terkait terapi kanker payudara dengan bahan alami lengkuas jika jumlah sampel dan kelompok

perlakuan, dosis dan waktu penelitian ditingkatkan.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak lengkuas secara oral pada mencit yang payudaranya diinduksi *benzo(a)pyrene* secara subkutan terbukti dapat menghambat hiperplasia sel-sel epitel kuboid abnormal dari duktus laktiferi payudara.

SARAN

1. Pada penelitian berikutnya perlu ditambahkan waktu induksi *benzo(a)pyrene* untuk mendapatkan gambaran mikroskopik payudara yang khas untuk kanker.
2. Pada penelitian berikutnya perlu ditambahkan kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat untuk mendapatkan dosis terbaik ekstrak lengkuas.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prof. dr. Jimmy Posangi, M.Sc, Ph.D, Sp.FK dan dr. Lily L. Loho, Sp.PA(K) serta semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang telah memberikan ide dan gagasan kepada penulis.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Hilangkan Mitos Tentang Kanker. 8 Mei 2014 [diakses tanggal 25 September 2014]. Tersedia dari : <http://www.depkes.go.id/article/print/201407070001/hilangkan-mitos-tentang-kanker.html>
2. **Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.** Riset kesehatan dasar 2013. Kementerian Kesehatan RI. 2013.p.85-7.
3. **Azamris.** Kanker payudara dan kehamilan. CDK-204. 2013;40:357-60.
4. **Murwanti R, Meiyanto E, Nurrochmad A, Alexander.** Pengaruh ekstrak rimpang temu putih (*curcuma zedoaria*rosc.) terhadap karsinogenesis paru yang diinduksi

- oleh benzo[α]piren. Farmasi Indonesia. 2006;3:54-55.
5. **Liong S, Nafie SNL.** Studi analisis kandungan benzo(a)piren dalam daging olahan dengan metode kromatografi gas disertasi. Makassar: Universitas Hasanudin; 2013.
 6. **Budiman A, Khambri D, Bachtiar H.** Faktor yang mempengaruhi kepatuhan berobat pasien yang diterapi dengan tamoxifen setelah operasi kanker payudara. Kesehatan Andalas. 2013;2(1):20-1.
 7. **Hartono NWB.** Pengaruh *Alpinia galanga* (lengkuas) terhadap aktivitas proliferasi sel dan indeks apoptosis pada adenokarsinoma mamma mencit C3H [tesis]. Jawa Tengah: Universitas Diponegoro; 2009.
 8. **Samosir AA.** Pengaruh ekstrak etanol daun bangun-bangun (*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng) terhadap penghambatan karsinogenesis mammae mencit betina yang diinduksi benzo(α)piren [disertasi]. Medan: Universitas Sumatra Utara; 2014.
 9. **Kumar V, Cotran RS, Robbins SL.** Buku ajar patologi. Edisi ke-7. EGC; 2007. p. 66-72.
 10. **Anggraini DR.** Ekspresi imunohistokimia ki-67 pada tumor payudara Tikus wistar yang diinokulasi kanker terinduksi Benzo(α)pyrene dengan pemberian ekstrak benalu teh [Tesis]. Medan : Universitas Sumatera Utara; 2012.
 11. **Lubis SL.** Profil penderita karsinoma payudara pada laboratorium patologi anatomi di kota medan tahun 2009 [disertasi]. Medan: Universitas Sumatera Utara; 2010.
 12. **Dewanto YH.** Hemoglobin adduct pada pedagang asongan yang berisiko tinggi terpapar polisiklik aromatic hidrokarbon (PAH) [disertasi]. Depok: Universitas Indonesia; 2007.
 13. **Mescher AL.** Histologi dasar junqueira teks& atlas. Edisi ke-12. Jakarta: EGC; 2011. p. 396-402.