

**STUDI TOKSISITAS KURKUMIN DAN VITAMIN E SEBAGAI
TERAPI PADA KANKER MAMMAE BERDASARKAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS dan AKTIVITAS
ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)
PADA TIKUS (*Ratus norvegicus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

ARVANTO EKA PRAMUDITA HOUR

115130107111030



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTER HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**STUDI TOKSISITAS KURKUMIN DAN VITAMIN E SEBAGAI
TERAPI PADA KANKER MAMMAE BERDASARKAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS dan AKTIVITAS
ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)
PADA TIKUS (*Ratus norvegicus*)**

Oleh:

ARVANTO EKA PRAMUDITA HOUR

115130107111030

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Dra. Herawati, MP
NIP. 19580127 198503 2 001

drh. Dyah Ayu Oktavianie, M. Biotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Arvanto Eka Pramudita Hour

Nim : 115130107111030

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Skripsi berjudul :

STUDI TOKSISITAS KURKUMIN DAN VITAMIN E SEBAGAI TERAPI PADA KANKER MAMMAE BERDASARKAN HISTOPATOLOGI PANKREAS dan AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) PADA TIKUS (*Ratus norvegicus*)

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar- benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama- nama yang termaksud di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,

Yang menyatakan,

(Arvanto E.P Hour)

NIM.115130107111030

**STUDI TOKSISITAS KURKUMIN DAN VITAMIN E SEBAGAI
TERAPI PADA KANKER MAMMAE BERDASARKAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS dan AKTIVITAS
ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)
PADA TIKUS (*Ratus norvegicus*)**

ABSTRAK

Kurkumin telah banyak diteliti aktivitasnya sebagai anti kanker mammae karena mampu menghambat interaksi estrogen dengan reseptornya. Pemberian kurkumin secara berlebihan dapat meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh karena selain berfungsi sebagai antioksidan kurkumin juga memiliki efek prooksidan yang dapat meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh. Meningkatnya jumlah radikal bebas dalam tubuh juga dapat menurunkan aktivitas dari enzim *Superoksidase Dismutase*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek toksik yang ditimbulkan oleh kombinasi kurkumin dan vitamin E berdasarkan aktivitas enzim *Superoksidase Dismutase* (SOD) dan histopatologi organ pankreas. Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus yang terdiri dari 10 ekor tikus jantan dan 10 ekor tikus betina yang dibagi dalam enam kelompok perlakuan. Kelompok pertama dan kedua akan diberikan kurkumin dengan dosis 72 mg/ Kg BB dan vitamin E 100 ul selama 14 hari sedangkan kelompok ketiga dan keempat akan diberikan kurkumin 72 mg/ Kg BB dan vitamin E 100 ul selama 28 hari serta kelompok kelima dan enam yang digunakan sebagai kontrol negatif yang hanya diberikan pakan standar. Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah histopatologi organ pankreas dan aktivitas enzim *Superoksidase Dismutase* (SOD). Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E yang dilakukan selama 14 hari, menunjukkan peningkatan aktivitas enzim SOD sebesar 41% pada tikus jantan dan 24,054% pada tikus betina jika dibandingkan dengan tikus kontrol, gambaran histopatologi pankreas menunjukkan kondisi yang normal. Sedangkan pada terapi yang dilakukan selama 28 hari menunjukkan penurunan aktivitas enzim SOD sebesar 47,617% pada tikus jantan dan 14,814% pada tikus betina jika dibandingkan dengan tikus control, gambaran perubahan yang terjadi pada histopatologi pankreas meliputi hemoragi, kongesti, piknosis dan degradasi lemak.

Kata kunci: Kurkumin, Vitamin E, Toksisitas, *Superoksidase Dismutase* (SOD), Histopatologi Pankreas.

**TOXICITY STUDY OF CURCUMIN AND VITAMIN E AS THERAPY ON
MAMMAE CANCER BASED ON HISTOPATOLOGY OF
PANCREAS and SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD)
ACTIVITY IN RATS (*Ratus norvegicus*)**

ABSTRACT

Curcumin has been extensively studied in its activity as an anti-cancer mammae because it can inhibit the interaction of estrogen with its receptors. Excessive amounts of curcumin can increase the number of free radicals in the body because in addition to functioning as an antioxidant curcumin also has a prooxidant effect that can increase the amount of free radicals in the body. Increasing the amount of free radicals in the body can also decrease the activity of the enzyme Superoxidase Dismutase. The purpose of this study was to determine the toxic effects caused by the combination of curcumin and vitamin E based on Superoxide Dismutase (SOD) enzyme activity and pancreatic organ histopathology. This study used 20 consisting of 10 male rats and 10 female rats divided into six treatment groups. The first and second group will be given curcumin with dose of 72 mg / kg and vitamin E 100 ul for 14 days while third and fourth group will be given curcumin 72 mg / kg and vitamin E 100 ul for 28 days and fifth and sixth group used as a negative control which is only given standard feed. The parameters observed in this study were pancreatic organ histopathology and Superoxide Dismutase (SOD) enzyme activity. Based on the results of the study it can be concluded that combination of curcumin and vitamin E therapy performed for 14 days showed an increase in SOD enzyme activity by 41% in male rats and 24.054% in female rats compared to control mice, pancreatic histopathology showed normal condition. While in the therapy performed for 28 days showed a decrease in SOD enzyme activity of 47.617% in male rats and 14.814% in female rats when compared with control mice, a picture of changes that occur in pancreatic histopathology include hemorrhage, congestion, picnosis and fat degradation.

Keywords: Curcumin, Vitamin E, Toxicity, Superoxide Dismutase (SOD), Pancreatic Histopathology.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga Skripsi yang berjudul **STUDI TOKSISITAS KURKUMIN DAN VITAMIN E SEBAGAI TERAPI PADA KANKER MAMMAE BERDASARKAN HISTOPATOLOGI PANKREAS dan AKTIVITAS ENZIM SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) PADA TIKUS (*Ratus norvegicus*)** dapat terselesaikan.

Dengan terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Dra. Herawati, MP selaku dosen pembimbing satu atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
2. drh. Dyah Ayu Oktavianie, M Biotech selaku dosen pembimbing dua atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, dan waktu yang telah diberikan.
3. drh. Aulia Firmawati, M.Si. selaku dosen penguji satu atas tanggapan dan saran yang diberikan.
4. drh. Yudit Oktanella, M. Vet selaku dosen penguji dua atas tanggapan dan saran yang diberikan.
5. Prof.Dr.Aulanni'am,drh, DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

6. Analis dan Staf Laboratorium Biosains. Laboratorium Patologi dan FAAL Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya, yang telah membantu penulis dalam penelitian atas bimbingan, kesabaran, fasilitas, waktu dan ilmu yang telah diberikan.
7. Anggota kelompok, Dimas Levin dan Mufid Hadi Raharjo atas kebersamaan dan kerjasamanya selama penelitian.
8. Orangtua tercinta, Ir, Hermene G. Hour dan Ibu Maria S. Jeharum serta adik-adik tercinta. Kevin Hour dan Lani Hour serta pacar Nena Taji dalam dukungan, semangat, doa, dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
9. Kolega di VET C CLASS 2011 yang selama ini senantiasa memberikan saran, kritik, motivasi, semangat, inspirasi, kebersamaan atas semua hal yang sangat luar biasa dan juga untuk semua kolega angkatan 2011.
10. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan karya tulis ini yang tidak sempat disebutkan.

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas segala kebaikan yang telah diberikan dan Laporan Skripsi ini dapat memberikan manfaat dan wawasan tidak hanya bagi penulis namun juga bagi pembaca.

Malang, 14 Februari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv

KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah.....	5
1.4 Tujuan.....	6
1.5 Manfaat.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Hewan Coba Tikus (<i>Ratus Norvegicus</i>).....	7
2.2 Antioksidan Superoksida Dismutase (SOD).....	8
2.3 Kurkumin.....	10
2.3.1 Sumber Kurkumin.....	11
2.3.2 Aktivitas Biologi Kurkumin.....	12
2.3 Kanker Payudara.....	15
2.5 Pankreas.....	17
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN	19
3.1 Kerangka Konseptual.....	19
3.2 Hipotesis Penelitian.....	21
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	22
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
4.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	22
4.3 Tahapan Penelitian.....	23
4.3.1 Rancangan Penelitian.....	23
4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian.....	23
4.3.3 Pembagian Kelompok Penelitian.....	23
4.3.4 Variabel Penelitian.....	25
4.4 Prosedur Kerja.....	25
4.4.1 Persiapan Hewan Model.....	25
4.4.2 Pemberian Terapi Kurkumin dan Vitamin E.....	27
4.4.3 Isolasi Serum.....	27
4.4.4 Pengujian Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD).....	27
4.4.5 Pembuatan Histopat Pankreas.....	28
4.4.6 Analisi Data.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32



5.1 Aktivitas Superoksidase Dismutase (SOD) Tikus yang Diterapi Menggunakan Kombinasi Kurkumin dan Vitamin E.....	32
5.2 Histopatologi Tikus yang Diterapi Menggunakan Terapi Kombinasi Kurkumin dan Vitamin E.....	36
5.2.1 Histopatologi Pankreas Tikus Jantan.....	36
5.2.2 Histopatologi Pankreas Tikus Betina.....	38
BAB VI PENUTUP	41
6.1 Kesimpulan.....	41
6.2 Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	43



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	8
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	19
Gambar 5.1 Histopat Pankreas Tikus Jantan.....	38
Gambar 5.2 Histopat Pankreas Tikus Betina.....	40



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik.....	46
Lampiran 2. Kerangka Operasional.....	47
Lampiran 3. Koleksi Serum.....	48
Lampiran 4. Pengambilan Organ Pankreas Pada Tikus.....	48
Lampiran 5. Pembuatan Larutan Kombinasi Kurkumin dengan Vitamin E.....	49
Lampiran 6. Pembuatan Larutan Kurkumin.....	49
Lampiran 7. Pembuatan Pelarut Kurkumin	49
Lampiran 8. Dosis Kurkumin Setiap Tikus.....	50
Lampiran 9. Analisa Aktvitas SOD Tikus Betina.....	50
Lampiran 10. Analisa Aktivitas SOD Tikus Jantan	52
Lampiran 11. Perhitungan Peningkatan dan Penurunan Aktivitas SOD Tikus terapi Kombinasi Kurkumin dan Vitamin E.....	54



DAFTAR ISTILAH

ANOVA	: <i>One Way Analysis of Varians</i>
BB	: Berat Badan
Cu	: <i>Cooper</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
HE	: <i>Hematoxyline Eosin</i>
Kg	: Kilogram
mL	: Mililiter
mm	: Milimeter
Mn	: Mangan
NaCl	: Natrium Klorida
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
rpm	: Rotasi per Menit
SOD	: <i>Superoksida Dismutase</i>
β	: Beta
Zn	: Zink



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proses karsinogenesis merupakan proses terjadinya kanker yang diawali dengan adanya kerusakan DNA atau mutasi pada gen-gen pengatur pertumbuhan (Hanahan and Weinberg, 2000). Mutasi tersebut umumnya disebabkan karena adanya paparan senyawa karsinogen seperti senyawa golongan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) (misalnya DMBA) yang metabolit aktifnya dapat berikatan dengan DNA (Rundle et al.,2000). Proses menuju terjadinya kanker yang progresif umumnya berjalan lama dan melibatkan perubahan-perubahan genetik lanjut serta perubahan ekspresi gen yang dapat mempengaruhi sifat pertumbuhan sel. Secara keseluruhan proses karsinogenesis tersebut dapat dibagi menjadi 2 fase yaitu fase inisiasi, yakni fase aktivasi senyawa karsinogen hingga terjadinya mutasi awal, dan fase post inisiasi yang meliputi tahap promosi dan progresi (Hanahan and Weinberg, 2000).

Penyakit kanker umumnya baru diketahui setelah sampai pada tahap progresi hingga sulit dilakukan terapi, karena sudah mengalami kelainan seluler yang majemuk. Oleh karena itu pengembangan terapi kanker perlu dilakukan terhadap semua tahap untuk mencegah terjadinya dan perkembangan lanjut dari sel-sel tumor tersebut (Aviva System Byologi. 2012).

Kanker merupakan penyakit degenerative yang banyak menyerang pada manusia maupun hewan peliharaan, khususnya kucing dan anjing. Kanker mammae pada kucing telah dilaporkan sebagai salah satu jenis kanker yang paling sering menyerang kucing, terutama kucing betina dan terus berkembang hingga saat ini (*Ferrari et al., 2012*)

Kejadian kanker, terutama kanker mammae pada hewan peliharaan sering terjadi akibat adanya penggunaan kontrasepsi dan ovariohisterektomi. Pada anjing, tingkat kejadiannya relatif lebih rendah bila dibandingkan dengan kucing. Perkembangan penelitian melaporkan bahwa target gen kanker mammae pada manusia juga ditemukan pada kucing. Beberapa gen yang diketahui merupakan marker gen kanker adalah p53, BCL-2, ICAM-1 dan HER-2. Gen p53 yang merupakan tumor suppressor dan BCL-2 yang merupakan gen pengendali apoptosis merupakan elemen pengendali kanker, dimana penurunan ekspresi gen p53 dan BCL-2 berkorelasi dengan perkembangan dan metastasis kanker. Sedangkan over ekspresi ICAM-1 dan HER-2 dapat menstimulasi peningkatan proliferasi sel yang memicu motilitas, invasi dan metastasis sel kanker. (*Aviva System Biology, 2012*).

Kurkumin merupakan bagian terbesar pigmen kuning yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa L.*) yang memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan, anti inflamasi, dan anti neoplastik. Oleh penduduk Asia, utamanya India dan Indonesia zat warna kuning dari kurkuma tersebut sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan, bumbu atau obat-obatan (*Meiyanto, 1999*).

Aktivitas antikanker curcumin dilaporkan berhubungan dengan aktivitasnya sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas (*radical scavenger*) (Sanduret al, 2007). Joe et al (2004), menetapkan kurkumin sebagai *broad spectrum* anti cancer agent dan menyatakan curcumin sebagai bahan yang berpotensi sebagai pencegah dan terapi kanker, dimana dapat menekan inisiasi tumor, promotion, dan metastasis.

Mekanisme aksi kurkumin sebagai anti kanker merupakan suatu permasalahan yang sangat kompleks. Aktivitas antioksidan dan penangkap radikal kurkumin terdokumentasi dengan baik dan mengindikasikan hubungannya sebagai penghambat proses karsinogenesis kanker. Aktivitasnya sebagai anti inflamasi yaitu sebagai inhibitor enzim siklooksigenase memiliki kaitan dengan aktivitasnya sebagai anti kanker terutama kanker kolon. Penelitian lain menunjukkan bahwa kurkumin juga aktif dalam menghambat proses karsinogenesis pada tahap inisiasi dan promosi atau progresi. Akhir-akhir ini dilaporkan bahwa kurkumin juga memiliki efek memacu proses apoptosis yaitu suatu proses alami kematian sel dalam rangka mempertahankan integritas sel secara keseluruhan (Meiyanto, 1999).

Mengonsumsi suplemen harian dengan kandungan nutrisi antioksidan melebihi *Dietary Reference Intake* (DRI) tidak direkomendasikan selama kemoterapi karena kandungan tinggi memiliki efek samping dan mengganggu efikasi terapi, sementara terapi radiasi dan kemoterapi bertujuan merusak sel kanker.

American Institute for Cancer Research (2003) merangkum pemberian suplemen harian selama terapi kanker sebagai berikut:· Suplementasi diet pasien kanker yang menjalani terapi anti-oksidan tunggal atau kombinasi melebihi RDA (Recommended Dietary Allowance) atau AI (Adequate Intake) tidak dapat direkomendasikan aman atau efektif.

· Penggunaan anti-oksidan kadar tinggi sebagai satu-satunya terapi tidak dianjurkan, karena berbahaya bagi sel normal via efek pro-oksidan atau mungkin memberi manfaat untuk sel kanker. Kelebihan antioksidan dalam tubuh juga dapat menyebabkan terganggunya sistem kerja dalam tubuh, hal ini disebabkan karena antioksidan yang banyak dalam tubuh dapat menyebabkan terganggunya sistem kerja tubuh dalam menghasilkan antioksidan itu sendiri akibat jumlahnya yang melebihi batas optimal.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh yang ditimbulkan dari terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E pada pengobatan kanker mammae berdasarkan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) pada serum tikus dan gambaran histopatologi pankreas.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

- 1) Bagaimana pengaruh terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E terhadap aktivitas enzim Superoksida Dismutase (SOD) pada serum tikus (*Rattus norvegicus*)

- 2) Bagaimana pengaruh terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E terhadap gambaran histopatologi pankreas pada tikus (*Ratus norvegicus*).

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

- 1) Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dan betina strain *Wistar* yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gajah Mada Yogyakarta dengan jumlah 20 ekor dengan perincian jantan 10 ekor dan betina 10 ekor, umur 9-10 minggu dan berat badan 140-150 gram. Penggunaan hewan model dalam penelitian memiliki sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya NO: 883-KEP-UB.
- 2) Hewan coba yang digunakan dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Kelompok pertama dan kedua diberikan kurkumin yang diperoleh dari ekstrak kunyit dan vitamin E yang menggunakan produk Nature E selama 14 hari dan kelompok ketiga dan keempat diberikan kurkumin dan vitamin E selama 28 hari sedangkan kelompok kelima digunakan sebagai kontrol negatif. Dosis kurkumin yang diberikan pada tikus yaitu sebesar 72 mg/kg BB/hari yang dikombinasikan dengan vitamin E dengan dosis 100 ul. Kurkumin kemudian akan dilarutkan dalam NaCl.

- 3) Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) yang diukur menggunakan Kit SOD (Cat. K335-100, Biovision) dan histopatologi pankreas menggunakan pewarnaan HE.

1.4 Tujuan

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1) Mengetahui pengaruh terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E terhadap aktivitas enzim Superoksida Dismutase (SOD) pada serum hewan tikus (*Rattus norvegicus*).
- 2) Mengetahui pengaruh terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E terhadap histopatologi pankreas pada tikus (*Rattus norvegicus*)

1.5 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bahwa terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E pada pengobatan kanker mammae dapat bekerja secara efektif jika diberikan atau digunakan secara wajar atau sesuai dengan dosis sehingga tidak menimbulkan efek toksik atau efek samping.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*)

Hewan laboratorium atau hewan percobaan dapat digunakan sebagai media dalam penelitian atau pengamatan laboratorik untuk mempelajari dan mengembangkan ilmu pengetahuan. Hewan coba yang banyak digunakan dalam penelitian adalah tikus, kelinci, hamster, unggas, kambing, domba, sapi, kerbau, kuda, dan simpanse (Malole dan Pramono, 1989). Tikus *Rattus norvegicus* merupakan hewan yang umum digunakan dalam penelitian, karena mudah dipelihara, secara garis besar fungsi dan bentuk organ serta proses biokimianya antara tikus dan manusia memiliki banyak kesamaan (Suckow, 2006). Klasifikasi tikus yang digunakan dalam penelitian menurut Myers dan Armitage (2004), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 2.1 Tikus (*Rattus norvegicus*) (Maley, 2003)

Tikus galur *wistar* merupakan hewan yang sering dipergunakan dalam berbagai penelitian, termasuk penelitian hormon dan pengamatan tingkah laku kopulasi yang berkaitan dengan libido. Ciri-ciri tikus ini adalah mempunyai kepala lebar, telinga panjang, dan memiliki berat antara 200-400 gram dengan lama waktu hidup 2,5 tahun sampai dengan 3 tahun. Masa pubertas tikus 50-60 hari. Tikus pemeliharaannya lebih mudah daripada mencit jantan yang sering bertengkar (Maley, 2003).

2.2 Antioksidan Superoksida dismutase (SOD)

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa pemberi elektron sedangkan pengertian biologis antioksidan adalah semua senyawa yang dapat meredam radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species* (Arivazhagan *etal.*, 2000). Atas dasar mekanisme kerjanya antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 yaitu:

a. Antioksidan primer

Antioksidan ini berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas baru karena dapat merubah radikal bebas menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum sempat bereaksi (Favier, 1995). Tubuh dapat menghasilkan antioksidan berupa enzim yang aktif bila

didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor.

Antioksidan primer yang berperan sebagai kofaktor yaitu:

1. *Superoksida dismutase (SOD)*

Antioksidan ini merupakan enzim yang bekerja bila ada mineral-mineral seperti tembaga, mangan yang bersumber pada kacang-kacangan, dan padi-padian.

2. *Glutathione peroksidase*

Enzim tersebut mendukung aktivitas enzim SOD bersama-sama dengan enzim katalase dan menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan. *Glutathione* sangat penting melindungi selaput-selaput sel.

3. *Katalase*

Enzim katalase di samping mendukung aktivitas enzim SOD juga dapat mengkatalisa perubahan berbagai macam peroksida dan radikal bebas menjadi oksigen dan air (Maulida *et al.*, 2010).

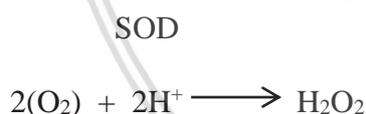
- b. Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang berfungsi menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai sehingga tidak terjadi kerusakan yang lebih besar. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, dan beta karoten yang dapat diperoleh dari buah-buahan.

c. Antioksidan tersier

Antioksidan tersier merupakan senyawa yang memperbaiki sel-sel dan jaringan yang rusak karena serangan radikal bebas. Biasanya yang termasuk kelompok ini adalah enzim (Favier, 1995).

Superoksida dismutase merupakan salah satu enzim antioksidan endogen yang dihasilkan terbanyak di dalam tubuh, berfungsi sebagai penangkal *Reactive Oxygen Species* (ROS) khususnya senyawa anion superoksida (O_2^*). Semua SOD adalah metallo protein yang mengandung *cooper* (Cu), besi (Fe), mangan (Mn) pada sisi aktifnya (Deshpande *et al.*, 1996). Dalam tubuh hewan mamalia, SOD mempunyai berbagai macam jenis dan lokasi, antara lain Mn-SOD yang terdapat dalam mitokondria, SOD ekstraseluler dan Cu,Zn-SOD terdapat pada sitosol dan nukleus. Enzim SOD memiliki efek dapat mereduksi radikal anion O_2^* seperti yang ditunjukkan reaksi dibawah ini : (Yoon *et al.*, 2008)



2.3 Kurkumin

Kurkumin tergolong senyawa polifenol dengan massa molar 368,38 g/mol dan rumus molekulnya $C_{21}H_{20}O_6$, memiliki nama IUPAC (*1E,6E*)-*1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione*. Pertama kali kurkumin ditemukan pada tahun 1815 oleh Vogel dan Pelletier (van der Goot, 1997). Kristalisasi kurkumin pertama kali dilakukan oleh Daube (1870) dan elusidasi struktur kimia dilakukan pada tahun 1910 oleh Lampe.

Sintesis kurkumin dilakukan pada tahun 1913 oleh Lampe dan Milobedzka (Antonyl *et al.*, 1999).

Sifat kimia dan fisika Kurkumin :

1) Sifat Kimia

Melting Point : 183°C

Molar Mass : 368,38 g/mol

Tidak larut di dalam air dan eter tetapi larut di dalam alkohol. Di dalam alkali warnanya akan menjadi merah kecoklatan dan di dalam asam akan berwarna kuning terang.

2) Sifat Fisika

Bentuk : serbuk

Warna : kuning terang atau kuning kemerahan

Di alam, kurkumin selalu terdapat bersama dengan senyawa turunan lainnya yaitu desmetoksi kurkumin dan *bis*-desmetoksi kurkumin, yang dikenal dengan nama kurkuminoid (Varalakshmi, et, al 2008). Kurkumin memiliki dua bentuk tautomer : keto dan enol. Struktur keto lebih dominan dalam bentuk padat, sedangkan struktur enol ditemukan dalam bentuk cairan.

2.4.1 Sumber Kurkumin

Kurkumin merupakan salah satu produk senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam rimpang tanaman famili Zingiberaceae antara lain: *Curcuma longa* syn, *Curcuma domestica* (kunyit) dan *Curcuma xanthorrhiza* (temulawak). Temulawak merupakan tanaman obat berupa tumbuhan

rumpun berbatang semu. Di daerah Jawa Barat temulawak disebut sebagai koneng gede sedangkan di Madura disebut sebagai temu lobak. Tanaman asli Indonesia ini menurut berbagai penelitian memang begitu banyak khasiatnya bagi kesehatan mulai dari kemampuannya meningkatkan kerja ginjal serta antiinflamasi hingga menjadi obat ampuh untuk jerawat, peningkatan nafsu makan, antikolesterol, antiinflamasi, antianemia, antioksidan, pencegah kanker, dan antimikroba (Pebriana, *et al.* 2008).

Klasifikasi:

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Ordo : Zingiberales

Keluarga : Zingiberaceae

Genus : Curcuma

Spesies : *Curcuma xanthorrhiza* ROXB.

2.4.2 Aktivitas Biologi Kurkumin

Kurkumin dikenal sebagai bahan alam yang mempunyai aktivitas biologis berupa zat warna kuning. Zat warna kuning ini sering digunakan sebagai bahan tambahan makanan, bumbu, atau obat-obatan dan tidak menunjukkan efek toksik (Meiyanto, 1999). Banyak hasil penelitian menunjukkan bahwa kurkumin aman dan tidak toksik bila dikonsumsi oleh manusia. Jumlah kurkumin yang aman dikonsumsi oleh manusia adalah 100

mg/ hari sedangkan untuk tikus 5 g/hari (Commandeur dan Vermeulen, 1996).

Kurkumin mempunyai aktivitas farmakologi yang sangat luas antara lain sebagai antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker (Majeed *et al*, 1995). Hubungan struktur dan aktivitas kurkumin terkait dengan gugus-gugus fungsional senyawa tersebut, yaitu sebagai berikut:

1. Aktivitas antioksidan oleh gugus hidroksi pada inti aromatik.
2. Gugus β diketon dan ikatan rangkap berperan dalam aktivitas biologis sebagai antiinflamasi, antikanker dan antimutagenik.
3. Dua cincin aromatis baik simetris maupun tidak simetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor (Majeed, *et al*. 1995).

Kurkumin juga telah banyak diteliti aktivitasnya sebagai anti kanker payudara karena mampu menghambat interaksi estrogen dengan reseptornya (Verma *et. al*, 1998). Dalam penelitian yang lain, dibuktikan bahwa secara *in vitro*, kurkumin pada sel kanker payudara mampu menghambat *Reactive Oxygen Species (ROS)* dan jalur *c-Jun NH(2)-terminal kinase(JNK)* yang akan menginduksi terjadinya apoptosis sampai 70 % (Somasundaram *et al.*,2003).

Reseptor progesteron memiliki peranan pada regulasi proses proliferasi sel kanker payudara, yang tidak kalah pentingnya dengan

reseptor estrogen. Hormon progesteron menginduksi proliferasi sel sehingga dapat memacu kanker. Efek proliferasi ini dapat dihambat dengan pengeblokan reseptor tersebut oleh senyawa yang mampu berkompetisi dengan hormon progesteron, yang dikenal sebagai *Selective Progesterone Receptor Modulators*(SPRMs) (Hoffman, 2004). Pebriana, *et al.* (2008) telah membuktikan secara *insilico* kurkumin dan senyawa analog kurkumin: PGV-0, PGV-1, HGV-0, dan HGV-1, hasil modifikasi dari kurkumin, memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara. Beberapa penelitian menunjukkan kurkumin disamping sebagai senyawa anti kanker juga menunjukkan aktivitas sebagai *immuno modulator*.

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan tersebut bertujuan untuk mengetahui pengaruh kurkumin terhadap sistem imunitas baik menggunakan hewan coba maupun kultur sel. Hasil evaluasi pemberian *kurkumin* harian pada tikus dengan dosis 1, 20 atau 40mg/kg, setelah 5 minggu menunjukkan dosis tertinggi kurkumin meningkatkan level IgG secara signifikan tetapi aktivitas *delayed-type hypersensitivity* dan *natural killer cell* sama dengan nilai kontrol pada semua dosis kurkumin (Somasundaram *et al.*,2003).

Varalakshmi,*et al* (2008) melalui penelitian *in vivo* menyatakan bahwa kurkumin dapat memodulasi sistem imun dengan cara meningkatkan kemampuan proliferasi sel T.

2.3 Kanker Payudara

Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah kanker pada jaringan payudara. Kanker payudara merupakan kanker tertua yang ditemukan di dunia. Kanker payudara merupakan salah satu kanker yang sering ditemukan di dunia dengan insidensi 20% dari seluruh penyakit kanker. Dari 600.000 kasus kanker payudara baru yang didiagnosis tiap tahun, 350.000 diantaranya ditemukan di negara maju, sedangkan 250.000 lainnya di negara sedang berkembang. (Sarjadi & Trihartini, 2001) Penyebab pasti kanker payudara tidak diketahui. Meskipun demikian, riset mengidentifikasi sejumlah faktor yang dapat meningkatkan risiko pada individu tertentu, yang meliputi:

1. Faktor genetik

Faktor genetik berpengaruh dalam peningkatan terjadinya kanker payudara (Virginia, 1993). Proto onkogen yang berperan pada terjadinya kanker payudara adalah C-erb-B2 (neu) yang merupakan reseptor faktor pertumbuhan, oleh karena berbagai sebab yang tidak diketahui mengalami amplifikasi dimana pita dari suatu kromosom akan mengalami penggandaan.

Bila daerah yang terganggu tersebut merupakan lokasi dari suatu proto onkogen (misalnya C-erb B2), maka proto onkogen tersebut akan ikut terganggu sehingga terjadi ekspresi yang berlebihan. Kanker payudara dapat terjadi bila suatu anti onkogen yang berfungsi untuk memperbaiki suatu kerusakan DNA, karena suatu mutasi kehilangan fungsinya, maka

mutasi gen lain tak dapat dicegah, termasuk mutasi pada gen-gen penyebab kanker (Virginia, 1993).

Pada kanker payudara anti onkogen yang berperan adalah BRCA-1 (pada kromosom 17) dan BRCA-2 (pada kromosom 13) (BRCA= *breast cancer*). Juga pada keadaan mutasi homozigot pada gen p53, apoptosis tak dapat terjadi dan mutasi tak dapat dicegah. Dalam hal ini p53 dengan perannya berfungsi sebagai anti - onkogen yaitu mencegah replikasi sel dengan cara menahan sel tetap berada pada fase G1 (atau G2) dan memacu apoptosis untuk mengeliminasi sel yang mengandung DNA yang rusak (Robbins, Kumar, & Cotran, 2007). Hilangnya p53 atau mutasi p53 akan menyebabkan hilangnya kendali *checkpoint* ini, sehingga sel-sel dengan kerusakan DNA lolos masuk ke fase S dengan segala akibatnya. Auto antibodi dari p53 telah ditemukan di dalam serum penderita kanker payudara (Stites & Parslow, 1997).

2. Hormon

Kelebihan hormon estrogen endogen atau lebih tepatnya terjadi ketidakseimbangan hormon terlihat sangat jelas pada kanker payudara (Virginia, *et al.*, 1993). Banyak faktor resiko yang dapat disebutkan seperti masa reproduksi yang lama, nulipara, dan usia tua saat mempunyai anak pertama akan meningkatkan estrogen pada siklus menstruasi (Dickson, & Lippman, 1997).

Wanita pasca menopause dengan tumor ovarium fungsional dapat terkena kanker payudara karena adanya hormon estrogen berlebihan

(Dickson, & Lippman,1997). Suatu penelitian menyebutkan bahwa kelebihan jumlah estrogen di air seni, frekuensi ovulasi, dan umur saat menstruasi dihubungkan dengan meningkatnya resiko terkena kanker payudara (Virginia, *et al.*, 1993).

Epitel payudara normal memiliki reseptor estrogen dan progesteron. Kedua reseptor ditemukan pada sebagian besar kanker payudara (Virginia, *et al.*, 1993). Berbagai bentuk *growth promoters* (*transforming growth factor-alpha / epithelial growth factor, platelet-derived growth factor*), *fibroblast growth factor* dan *growth inhibitor* disekresikan oleh sel kanker payudara manusia.

Banyak penelitian menyatakan bahwa *growth promoters* terlibat dalam mekanisme *autokrin* dari tumor (Dickson, & Lippman, 1997). Produksi GF (*Growth Factor*) tergantung pada hormon estrogen, sehingga interaksi antara hormon, reseptor hormon di sel kanker dan GF autokrin merangsang sel tumor menjadi lebih progresif (Virginia,*et al.*,1993).

3. Faktor lingkungan

Pengaruh lingkungan diduga karena berbagai faktor antara lain : alkohol, diet tinggi lemak, kecanduan minum kopi, dan infeksi virus. Hal tersebut mungkin mempengaruhi onkogen dan gen supresi tumor dari kanker payudara (Virginia, *et al.*,1993).

2.5 Pankreas

Pankreas terletak pada rongga abdomen, memiliki permukaan yang membentuk lobulasi, berwarna putih keabuan hingga kemerahan (Frandsen,

1992). Organ ini merupakan kelenjar majemuk yang terdiri atas jaringan eksokrin yang menghasilkan enzim–enzim pankreas (amylase, peptidase, dan lipase), dan jaringan endokrin yang menghasilkan hormon–hormon (insulin, glukagon, dan somatostatin).

Fungsi endokrin pankreas terdapat pada sekelompok sel yang ditemukan oleh Langerhans ditahun 1869, sehingga sekelompok sel tersebut dinamakan sebagai pulau Langerhans. Pada tikus dewasa, pankreas berisi kira-kira 1-2% pulau - pulau Langerhans dengan diameter antara 100-200 μm (Boorman & Beth 1999).

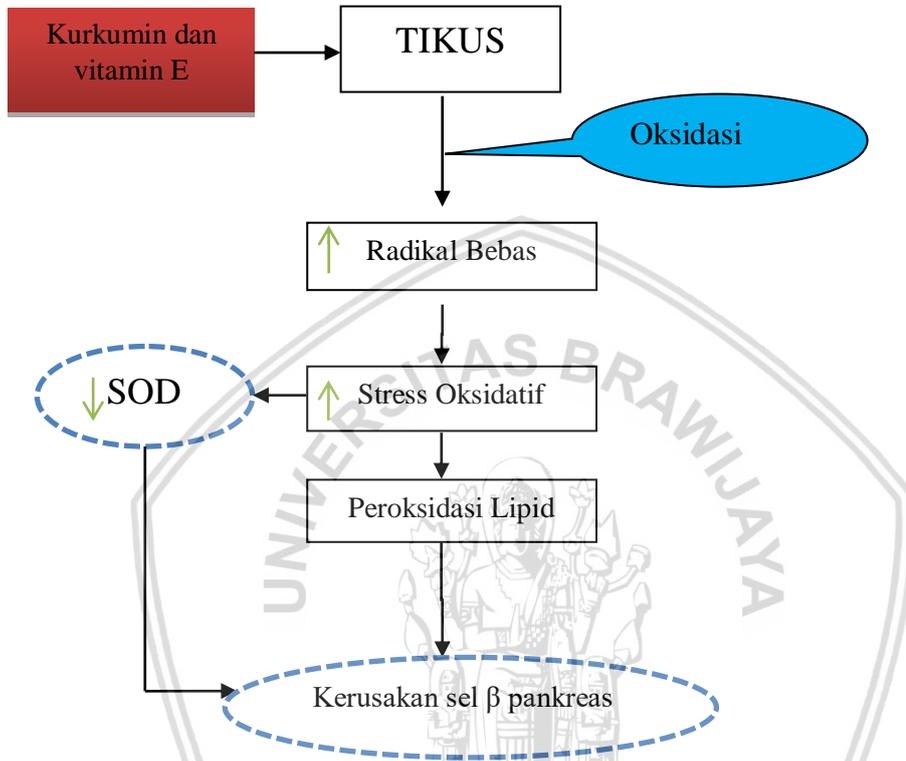
Ada lima tipe sel yang ditemukan dipulau Langerhans tikus, masing-masing memiliki kemampuan sekresi hormon yang berbeda - beda, yaitu:

1. Sel alpha, yaitu sel yang menghasilkan hormon glukagon. Sel ini merupakan sel terbanyak kedua yang ditemukan di pulau Langerhans setelah sel beta (20%)
2. Sel beta, yaitu sel yang menghasilkan hormon insulin. Sel β terletak di dalam pulau Langerhans dan memenuhi sekitar 80% dari volume pulau Langerhans.
3. Sel delta, sel ini menghasilkan somatostatin yang berfungsi untuk mengatur pelepasan dari hormon insulin dan hormon glukagon
4. Sel F, sel ini menghasilkan *pancreatic polypeptide* yang belum diketahui jelas fungsinya.

BAB III

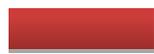
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan gambar :

-  : Terapi Kurkumin dan Vitamin E
-  : Parameter yang diamati (*enzim superoksidase dismutase* dan histopatologi pankreas)
-  : Menstimulasi
-  : Efek terapi Kurkumin dan vitamin E
-  : Proses Oksidasi

Pemberian kurkumin dan vitamin E sebagai antioksidan secara berlebihan dapat meningkatkan produksi radikal bebas di dalam tubuh karena antioksidan akan mengalami oksidasi di dalam tubuh. Meningkatnya jumlah radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada sel beta pancreas. Radikal bebas dapat merusak sel dengan cara merusak membran sel tersebut. Kerusakan pada membran sel ini dapat terjadi dengan cara:

1. radikal bebas berikatan secara kovalen dengan enzim dan/atau reseptor yang berada di membran sel, sehingga merubah aktivitas komponen-komponen yang terdapat pada membran sel tersebut.
2. radikal bebas berikatan secara kovalen dengan komponen membran sel, sehingga merubah struktur membran dan mengakibatkan perubahan fungsi membran dan/atau mengubah karakter membran menjadi seperti antigen.
3. radikal bebas mengganggu sistem transport membran sel melalui ikatan kovalen, mengoksidasi kelompok thiol, atau dengan merubah asam lemak polyunsaturated.
4. radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak polyunsaturated dinding sel. Radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksidai lipid akan terbentuk dalam rantai yang makin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel. (Sikka *et al.*, 1995).

Stress oksidatif merupakan keadaan dimana jumlah produksi radikal bebas dengan antioksidan yang ada dalam tubuh tidak seimbang. Ada dua faktor penyebab terjadinya stress oksidatif, yang pertama karena berkurangnya atau tidak adanya antioksidan, baik enzimatis maupun non

enzimatis dan yang kedua adalah adanya peningkatan radikal bebas baik endogen maupun eksogen (Hudgson, 2004).

Peningkatan jumlah radikal bebas menyebabkan penurunan aktivitas enzim *superoksida dismutase* (SOD). *Superoksida dismutase* (SOD) yang dihasilkan oleh sel tubuh berfungsi menghambat reaksi superoksida dimana SOD dapat mengkonversi superoksida menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), selanjutnya hidrogen peroksida dapat dikonversi menjadi oksigen dan air oleh katalase dan glutathion peroksidase sehingga tidak berbahaya lagi dalam tubuh.

Di dalam tubuh radikal bebas dapat menyebabkan proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid adalah perusakan oksidatif terhadap asam lemak tak jenuh berantai panjang (*Polyunsaturated Fatty Acid*), seperti asam linoleat, asam linolenat, dan asam arakhidonat yang menghasilkan senyawa malondialdehida (MDA) yang menandakan adanya kerusakan sel β pankreas.

3.2 Hipotesis Penelitian

Pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E secara berlebihan dapat meningkatkan produksi radikal bebas sekunder yang dapat menurunkan aktivitas dari enzim *superoksida dismutase* (SOD) dan mengakibatkan sel beta pankreas.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di beberapa laboratorium yaitu perawatan dan perlakuan dan pembedahan terhadap hewan model dilaksanakan di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.. Pengukuran aktivitas *superoksida dismutase* (SOD) dilaksanakan di Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Pembuatan histopat organ pankreas dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Penelitian ini dilaksanakan selama bulan September 2016 sampai dengan bulan Oktober 2016.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini menggunakan alat - alat meliputi kandang tikus, timbangan untuk menimbang berat badan tikus, alat pencekok oral (sonde lambung), gunting bedah, pinset, jarum pentul, kertas label, *microtube*, *micropipete*, tabung reaksi, labu ukur (10 ml, 50 ml, 100 ml), alat sentrifugasi, labu erlenmeyer, *spectro photometer*, spuit, *scalpel*, dan mikroskop

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan dan betina dengan berat badan awal 150-200 gram, alkohol 70%, *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7, NaCl fisiologis, akuades, kit SOD, kurkumin, dan vitamin E.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3, perlakuan 4 serta kelompok kontrol negatif. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari empat ekor tikus sebagai ulangan.

4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian

Kriteria inklusi hewan model adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Wistar*, jenis kelamin jantan dan betina, umur 9-10 minggu, berat badan antara 120-150 gram, kondisi sehat (aktivitas baik, tidak ada abnormalitas anatomis, dan nafsu makan baik), lulus proses sertifikasi layak etik penelitian oleh KEP FKUB, dan belum pernah digunakan penelitian.

4.3.3 Pembagian Kelompok Penelitian

Pembagian kelompok perlakuan pada penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Perlakuan 1 terdiri dari 4 ekor tikus jantan yang diterapi dengan menggunakan kombinasi kurkumin dan vitamin E dengan dosis kurkumin 72 mg/ kg BB dan vitamin E 100 UI selama 14 hari, perlakuan 2 terdiri dari 4 ekor tikus betina yang diterapi dengan menggunakan kombinasi kurkumin dan vitamin E dengan dosis kurkumin 72 mg/ kg BB dan vitamin E 100 UI selama 14 hari, perlakuan 3 terdiri dari 4 ekor tikus jantan yang diterapi menggunakan kurkumin dan vitamin E dengan dosis kurkumin 72 mg/ kg BB dan vitamin E 100 UI selama 28 hari,

perlakuan 4 terdiri dari 4 ekor tikus betina yang diterapi menggunakan kurkumin dan vitamin E dengan dosis kurkumin 72 mg/ kg BB dan vitamin E 100 UI selama 28 hari, serta kelompok kontrol negatif sebanyak 4 ekor tikus yang terdiri dari 2 ekor tikus jantan dan 2 ekor tikus betina.

No	Perlakuan	Perlakuan 14 hari	Perlakuan 28 hari
1	Perlakuan Satu	✓	
2	Perlakuan Dua	✓	
3	Perlakuan Tiga		✓
4	Perlakuan Empat		✓
5	Kontrol Negatif	2 ekor tikus (jantan dan betina)	2 ekor tikus (jantan dan betina)

Banyaknya hewan model yang diperlukan dalam penelitian dapat dihitung dengan menggunakan rumus $p(n-1) \geq 15$ (Kusriningrum, 2008).

Sehingga :

$$p(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

p = jumlah perlakuan

n = jumlah minimal ulangan yang diperlukan



Berdasarkan hasil perhitungan diatas, untuk lima kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan minimal empat kali ulangan dalam setiap kelompok. Penelitian ini menggunakan empat kali ulangan dalam setiap kelompok sehingga jumlah seluruh tikus yang diperlukan sebanyak 20 ekor. Selanjutnya dibagi dalam 5 kelompok yaitu kontrol negatif, perlakuan 1, perlakuan 2, perlakuan 3, dan perlakuan 4.

4.3.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu :

1. Variabel bebas:

- Pemberian terapi kurkumin dan vitamin E

2. Variabel tergantung:

- Aktivitas enzim SOD dan Histopatologi Pankreas

3. Variabel kendali:

- Tikus putih (*Rattus norvegicus*) meliputi galur, berat badan awal, umur, jenis kelamin dan kondisi eksperimental meliputi suhu kandang, tempat kandang, air *et libitum*, dan ventilasi kandang.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Model

Hewan model dibagi dalam lima kelompok perlakuan secara acak. Hewan model diadaptasikan dalam kandang kelompok selama tujuh hari sebelum perlakuan (Lina, dkk., 2003). Hewan model diberi ransum pakan basal dengan komposisi disusun berdasarkan standar *Association of Analytical Communities* (AOAC)(2005) yang mengandung karbohidrat,

protein 10%, lemak 3%, vitamin, dan air 12%. Tikus yang digunakan adalah jenis tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain *Wistar* jantan dan betina dengan berat 120-150 gram dan berumur 9-10 minggu. Jumlah keseluruhan yang digunakan 20 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Perlakuan 1 dan 2 yang diterapi selama 14 hari, perlakuan 3 dan 4 yang diterapi selama 28 hari, dan kelompok kontrol negatif. Setiap kelompok perlakuan berjumlah 4 ekor tikus. Kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika pakan tersebut berupa pakan kering dan dapat ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Kebutuhan minum seekor tikus setiap hari kira-kira 15-30 ml air. Jumlah ini dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah banyak mengandung air. Tiap hari seekor tikus dewasa makan antara 12 g sampai 20 g makanan. Tikus strain *wistar* memerlukan asupan makanan sebanyak 5 gram/100 gram berat badan dan konsumsi cairan 8-11 ml/gram berat badan dalam 24 jam (Malole dan Pramono, 1989).

Tikus dikandangkan dalam kandang yang berukuran 50 x 40 x 20 cm dengan jumlah sesuai dengan jumlah tikus yang digunakan. Kandang terbuat dari plastik dengan tutup dari rangka kawat. Kandang tikus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap serta polutan lainnya. Suhu optimum ruangan untuk tikus adalah 22-24⁰C dan kelembaban udara 50-60% dengan ventilasi yang cukup.

4.4.2 Pemberian Terapi Kurkumin dan Vitamin E

Pemberian terapi kurkumin dan vitamin E 100 ul dilakukan dengan cara per oral menggunakan sonde lambung dengan dosis 72mg/kgBB. Kurkumin dan vitamin E diberikan selama 14 hari untuk perlakuan 1 dan perlakuan 2 dan diberikan selama 28 hari untuk perlakuan 3 dan 4. Sonde lambung yang digunakan adalah spuit sonde ukuran 5 ml. Kurkumin dan vitamin E yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam spuit sonde ukuran 5 ml. Kemudian diberikan pada hewan coba yang sebelumnya diencerkan menggunakan NaCl.

4.4.3 Isolasi Serum

Darah diambil melalui organ jantung pada saat pembedahan tikus. Tikus dikondisikan masih dalam keadaan hidup pada saat pembedahan pengambilan darah pada organ jantung. Darah yang diambil sebanyak 3 ml dan ditempatkan pada tabung *venoject* tanpa antikoagulan. Kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3 jam dalam keadaan miring. Kemudian jika sudah terbentuk endapan, dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Selanjutnya didapatkan supernatan yang akan diambil menggunakan mikropipet dan ditempatkan pada microtube. Kemudian microtube yang berisi serum di simpan di dalam lemari pendingin pada suhu -20°C yang nantinya akan digunakan untuk uji selanjutnya.

4.4.4 Pengujian Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase (SOD)

Penentuan aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD) menggunakan kit SOD (Cat.K335-100, Biovision). Larutan sampel (seperti

yang terlihat pada Tabel L.5.1.1). Sampel serum sebanyak 20 µl dimasukkan kedalam sumuran sampel dan sumuran blanko 2, pada sumuran blanko 1 dan 3 dimasukkan 20 µl akuades. 200 µl *enzyme working solution* pada setiap sumuran, selanjutnya 20 µl *dilution buffer* ditambahkan ke dalam sumuran blanko 2 dan 3. 20 µl larutan enzim ditambahkan pada setiap sumuran dan homogenasi larutan dilakukan dengan meletakkan mikroplate yang telah ditutup aluminium foil dalam shaker. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit. Campuran diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *ELISA reader*.

Penghitungan aktivitas SOD menggunakan rumus sebagai berikut:(Lampiran 9)

$$\text{Aktivitas SOD} = \frac{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}}) - (A_{\text{sampel}} - A_{\text{blank2}})}{(A_{\text{blank1}} - A_{\text{blank3}})} \times 100$$

$$\text{Aktivitas SOD} = \frac{\% \text{ kecepatan penghambatan}}{50\% \times \text{vol. Enzim yang digunakan}} \times 100$$

Keterangan : fp = faktor pengenceran

4.4.5 Pembuatan Histopat Pankreas Tikus

Histopat pancreas tikus yang akan digunakan dibuat dengan menggunakan pewarnaan HE. Pewarnaan HE digunakan Karena dapat menunjukkan sebagian besar struktur histologi jaringan. Prosedur pewarnaan HE adalah:

1. Fiksasi

Jaringan yang digunakan adalah organ pankreas tikus (*ratus norvegicus*). Jaringan difiksasi dengan cara direndam dalam larutan formalin 10% selama 24 jam, dengan tujuan untuk mempertahankan unsur penting dalam jaringan. Kemudian dilakukan pemotongan pada jaringan maksimal ukuran 1 x 1 cm.

2. Dehidrasi

Jaringan diambil dari larutan formalin 10% dan dimasukkan ke dalam larutan alkohol 70%, 80%, 90% masing-masing selama 1 hari. Gunanya adalah mengeluarkan air dari dalam jaringan agar jaringan tersebut dapat diisi oleh parafin sehingga jaringan dapat diiris tipis menggunakan mikrotom.

3. Penjernihan (Clearing)

Tujuannya adalah mengeluarkan zat penarik air (dehidran) dan menggantinya dengan bahan kimia xylol yang dapat bercampur dengan dehidran maupun paraffin. Jaringan dimasukkan ke dalam larutan xylol selama 2 kali 30 menit (xylol I 30 menit, xylol II 30 menit).

4. Impregnasi/Embedding

Tujuannya adalah mengeluarkan clearing agent dari jaringan dan menggantikannya dengan paraffin. Bahan (jaringan) dimasukkan ke dalam paraffin cair suhu 56⁰C - 60⁰C selama 3 x 1 jam dalam inkubator (paraffin I 1 jam, paraffin II 1 jam, paraffin III 1 jam).

5. Blocking

Bahan jaringan dimasukkan kedalam alat pencetak yaitu potongan besi berbentuk L (Leuckhart). Dua buah potongan besi disusun di atas lembaran logam hingga rapat dan membentuk ruang seperti kubus. Tuangkan sedikit parafin cair di bagian pinggir tempat pertemuan potongan besi agar tidak bocor. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam ruangan kubus. Selanjutnya parafin dituangkan ke dalam ruangan kubus tersebut. Hal yang harus dicegah adalah jangan sampai gelembung udara mengisi ke dalam blok parafin tersebut. Simpan selama satu malam, selanjutnya siap untuk diiris.

6. Sectioning

Kemudian bahan diiris menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 5-10 μm dan hasil pengirisan yang bagus dimasukkan ke dalam water bath pada suhu 50°C. Setelah pita paraffin terkembang dengan baik, tempelkan pita paraffin secara hati-hati ke object glass yang telah dilapisi dengan albumin + gliserin, keringkan ditempat terbuka, selanjutnya dilakukan proses pewarnaan.

7. Pewarnaan (Staining)

Object glass yang berisi jaringan dimasukkan kedalam larutan-larutan yang telah tersedia antara lain: xylol, alcohol 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, air kran, haematoxilin mayer, eosin.

8. Perekatan (Mounting)

Kemudian preparat ditempel dengan cover glass yang sudah ditetesi balsam Canada sebanyak 1 tetes. Usahakan tidak terbentuk air bubble.

9. Pelabelan (Labelling)

Beri keterangan di object glass mengenai jaringan apa yang menjadi sediaan. Selanjutnya preparat pankreas dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 (Elvana, 2012).

4.4.6 AnalisaData

Data yang diperoleh dari pengukuran aktivitas SOD berupa data kuantitatif akan dianalisis statistika dengan uji *One Way Analysis of Variant* (ANOVA). Dilakukan uji ANOVA untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan dari aktivitas SOD. Selanjutnya dilakukan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) atau *Tukey Test* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) apabila terdapat perbedaan minimal satu atau dua kelompok perlakuan. Uji BNJ dilakukan untuk mengetahui perlakuan yang signifikan (Kusriningrum, 2008).

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) Tikus yang diterapi menggunakan kombinasi kurkumin dan vitamin E

Tikus jantan dan betina yang berusia 9 sampai 10 minggu diterapi menggunakan kombinasi kurkumin dan vitamin E selama 14 hari dan 28 hari dengan dosis 72 mg/kg BB kurkumin dan 100 ul vitamin E. Setelah dilakukan terapi selama 14 hari dan 28 hari serum tikus akan dikoleksi untuk mengukur aktivitas dari enzim Superoksida Dismutase. Menurut Nurhayati dkk., (2011), aktivitas SOD didefinisikan sebagai banyaknya mikromolekul radikal anion superoksida yang diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O) oleh tiap (mL) SOD dalam satu menit pada kondisi optimum. Superoksida Dismutase (SOD) merupakan enzim yang berfungsi untuk mengkatalisa radikal superoksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida (Halliwell *and* Whiteman, 2004). Hasil penelitian dianalisa menggunakan uji ANOVA seperti yang dapat dilihat pada **Lampiran** pada pengaruh pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E terhadap aktivitas superoksida dismutase (SOD).

Tabel 5.1 Aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diterapi menggunakan terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E

Kelompok Perlakuan	Rata-rata aktivitas SOD (U/mL) \pm SD	Penurunan terhadap kelompok kontrol (%)	Peningkatan Terhadap Kelompok Kontrol (%)
Tikus Kontrol jantan Terapi 14 Hari	3,0110 \pm 0,0000 ²	-	-
Tikus Kontrol jantan Terapi 28 Hari	2,7890 \pm 0,0000 ²	-	-
Tikus Kontrol Betina Terapi 14 Hari	2,3440 \pm 0,0000 ¹²	-	-
Tikus Kontrol Betina Terapi 28 Hari	3.1220 \pm 0,0000 ²	-	-
Tikus Jantan Terapi 14 Hari	3,8442 \pm 0,6441 ³		27,67
Tikus Betina Terapi 14 Hari	3,1637 \pm 0,6193 ²		34,97
Tikus Jantan Terapi 28 Hari	1,3442 \pm 0,3423 ¹	51,80	
Tikus Betina Terapi 28 Hari	1.8722 \pm 0,5604 ¹	39,87	

Tikus kontrol jantan terapi 14 hari pada **Tabel 5.1** menunjukkan aktivitas SOD sebesar 3,0110 \pm 0,0000² U/mL sedangkan pada tikus kontrol jantan terapi 28 hari menunjukkan aktivitas SOD sebesar 2,7890 \pm 0,0000² U/mL. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas SOD pada tikus kontrol jantan merupakan respon fisiologis tubuh yang dapat distabilkan oleh antioksidan endogen karena tikus kontrol jantan tidak memperoleh terapi kombinasi kurkumin dan Vitamin E. selain itu tikus kontrol jantan pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding dari aktivitas enzim SOD dari tikus jantan yang terapi menggunakan terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E dengan dosis 72 mg/Kg BB untuk kurkuimin dan 100 ul untuk vitamin E yang diberikan selama 14 hari dan 28 hari.

Tikus jantan yang diterapi menggunakan kurkumin dan vitamin E selama 14 hari memiliki rata-rata aktivitas enzim SOD sebesar $3,8442 \pm 0,6441^3$ U/mL dan menunjukkan peningkatan aktivitas enzim SOD sebesar 27,67% jika dibandingkan dengan aktivitas enzim SOD dari tikus jantan terapi 14 hari yang digunakan sebagai kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E memberikan dampak yang positif untuk meningkatkan aktivitas dari enzim SOD dan berdasarkan uji analisis menggunakan tukey test menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dimana nilai pada tikus jantan yang diterapi selama 14 hari adalah $p = 0,015$.

Tikus jantan yang diterapi selama 28 hari menunjukkan aktivitas enzim SOD sebesar $1,3442 \pm 0,3423^1$ U/mL. Jika dibandingkan dengan aktivitas enzim SOD dari tikus kontrol jantan terapi 28 hari, aktivitas enzim SOD dari tikus jantan yang terapi selama 28 hari menunjukkan penurunan aktivitas enzim SOD sebesar 51,80%. Hal ini menunjukkan bahwa terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E yang diberikan kepada tikus jantan selama 28 hari menunjukkan efek yang negatif. Berdasarkan uji analisis menggunakan tukey test penurunan tersebut atau perbedaan yang terdapat antara tikus jantan yang digunakan sebagai kontrol dengan tikus yang diterapi selama 28 hari menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dimana nilai p pada tikus jantan yang diterapi selama 28 hari adalah $p = 0$. Menurut Purba, apabila penambahan konsentrasi antioksidan besar, maka akan berpengaruh pada laju oksidasi. Konsentrasi yang lebih tinggi tersebut dapat menyebabkan aktivitas antioksidan untuk golongan fenolik lenyap, bahkan dapat berubah menjadi prooksidan (Purba, 2009).

Hasil uji analisis menggunakan tukey test juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan tikus jantan yang diterapi selama 14 hari dan tikus jantan yang diterapi selama 28 hari. Hal ini dapat dilihat pada hasil uji analisis dimana nilai p antara kedua kelompok tersebut adalah 0,00 ($p < 0,05$). Dengan hasil uji analisis ini dapat disimpulkan bahwa terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E pada tikus jantan lebih efisien jika diberikan selama 14 hari.

Tikus kontrol betina terapi 14 hari pada **Tabel 5.1** menunjukkan aktivitas SOD sebesar $2,3440 \pm 0,0000^{12}$ U/mL. Sedangkan tikus kontrol betina terapi 28 hari menunjukkan aktivitas SOD sebesar $3,1220 \pm 0,0000^2$ U/mL. Tikus kontrol betina pada penelitian ini digunakan sebagai pembandingan dari aktivitas enzim SOD dari tikus betina yang terapi menggunakan terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E dengan dosis 72 mg/Kg BB untuk kurkuimin dan 100 ul untuk vitamin E yang diberikan selama 14 hari dan 28 hari.

Tikus betina yang diterapi selama 14 hari tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan tikus kontrol. Hal ini dapat dilihat dari hasil uji analisis menggunakan tukey test dimana nilai p antar kedua kelompok tersebut adalah 0,07. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan selama 14 hari karena $p > 0,05$. Rata-rata aktivitas enzim SOD yang terdapat pada kelompok perlakuan betina yang diterapi selama 14 hari adalah $3,1637 \pm 0,6193^2$ U/mL. Presentase peningkatan yang ditunjukkan oleh kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol sebesar 34,97 %.

Tikus betina yang diterapi selama 28 hari memiliki rata-rata aktivitas enzim SOD sebesar $1.8722 \pm 0,5604$ ¹U/mL. jika dibandingkan dengan tikus betina yang digunakan sebagai kontrol maka dapat dilihat bahwa terdapat penurunan aktivitas enzim SOD pada terapi yang dilakukan Selama 28 hari pada tikus betina, penurunan tersebut sebesar 39,97%. Berdasarkan hasil uji analisis menggunakan tukey test didapatkan nilai $p = 0.006$, hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok perlakuan tersebut karena nilai $p < 0.05$.

Hasil uji analisis menggunakan tukey test juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok tikus betina yang diterapi selama 14 hari dan kelompok perlakuan yang diterapi selama 28 hari. Hal ini dapat dilihat dari nilai p antara kedua kelompok perlakuan tersebut yaitu sebesar 0,004 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terapi kombinasi kurkumin memiliki dampak yang positif pada kelompok perlakuan yang diberikan terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E selama 14 hari.

Berdasarkan hasil uji analisis antara ke empat kelompok perlakuan diatas, dapat disimpulkan bahwa terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E memiliki dampak yang lebih baik pada terapi yang dilakukan selama 14 hari, terutama terapi yang dilakukan pada hewan jantan selama 14 hari karena terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol yang digunakan sebagai pembanding ($p < 0,05$).

5.2 Histopatologi Tikus yang Diterapi Menggunakan Terapi Kombinasi Kurkumin dan Vitamin E

Hasil pewarnaan hematoksilin-eosin (HE) pada potongan jaringan pankreas semua kelompok diamati terhadap morfologi sel-sel jaringan pankreas. Pada pewarnaan HE bagian endokrin (pulau Langerhans) mengambil warna lebih muda (merah muda) daripada bagian eksokrin dan di dalamnya ditemukan pembuluh-pembuluh darah kapier (Wheater 1979). Pengamatan histopatologi pankreas dilakukan dengan mengamati bentuk morfologi struktur jaringan pankreas tikus yang diwarnai dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE).

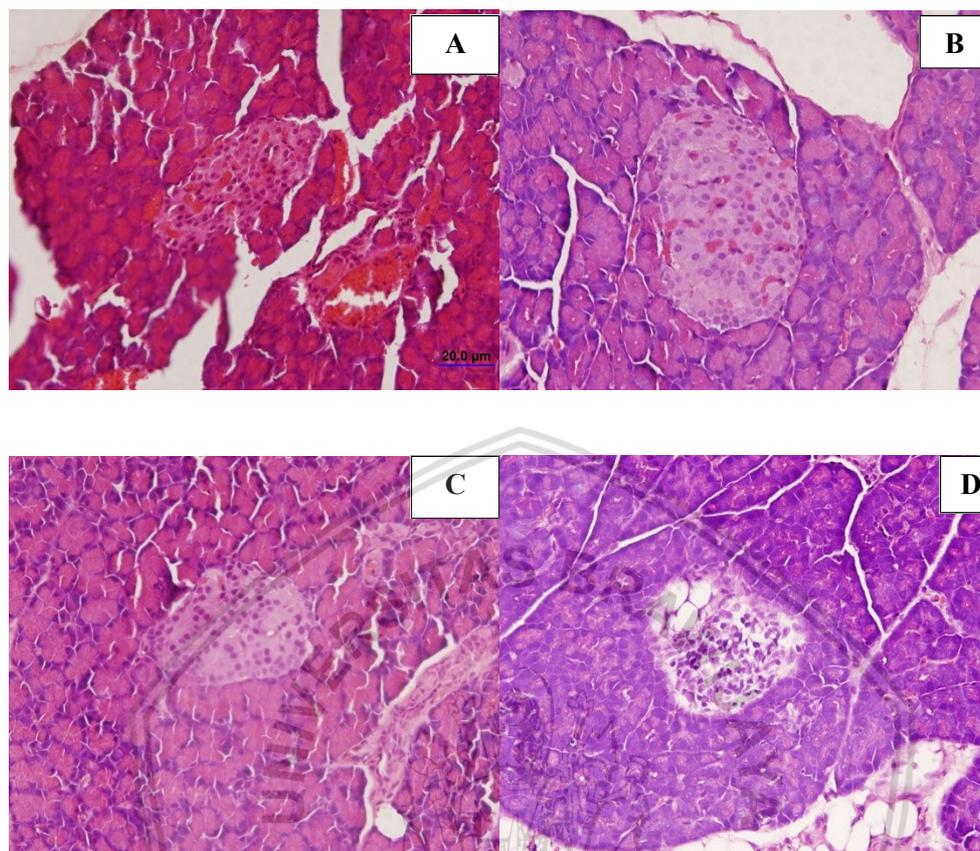
5.2.1 Histopatologi Pankreas Tikus Jantan

Tikus jantan yang digunakan sebagai tikus kontrol yaitu tikus jantan yang tidak menerima terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E menunjukkan perubahan yang hampir sama baik pada tikus kontrol yang digunakan sebagai tikus kontrol untuk terapi selama 14 hari maupun pada tikus kontrol yang digunakan sebagai tikus kontrol untuk terapi selama 28 hari. Kedua tikus yang digunakan sebagai tikus kontrol tersebut menunjukkan kondisi sel pankreas yang mengalami sedikit perubahan morfologi, dimana ditemukan bercak darah yang keluar dari pembuluh darah kapiler yang terdapat pada sel pankreas, meskipun secara umum kondisi pulau Langerhans masih dapat dikatakan normal karena kondisi sel yang masih seragam dan inti sel yang masih dalam keadaan yang bulat dan terlihat jelas.

Pada kelompok perlakuan yang diterapi selama 14 hari menunjukkan kondisi sel pankreas yang normal dan tidak mengalami perubahan morfologi,

zubaidah (2014), melaporkan bahwa pulau Langerhans dikatakan normal jika adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam, bentuk bulat dan inti sel tampak jelas serta tidak terdapat sel-sel yang mengalami edema (pembengkakan).

Tikus jantan yang diterapi selama 28 hari menunjukkan perubahan morfologi sel yang sangat jelas dilihat. Inti selnya tidak dapat dilihat dengan jelas, ukuran inti sel yang beragam dan tidak tersebar secara merata atau terdapatnya ruang kosong pada pulau Langerhans dan terdapat perubahan hidropik. Perubahan hidropik yaitu pada sel-sel yang sitoplasmanya menjadi pucat dan bengkak dikarenakan pemimbunan cairan dan perubahan lemak yang terjadi karena penimbunan tetesan lipid akibat gangguan fungsi ribosom dan uncoupling lipid dari metabolisme protein yang sering menyebabkan vakuolisasi pada sel.



Gambar 5.1 Histopat Pankreas Tikus Jantan

Keteranagn: histopat tikus kontrol jantan perlakuan 14 hari (Gambar A), histopat tikus kontrol jantan perlakuan 28 hari (Gambar B), histopat tikus jantan perlakuan 14 hari (Gambar C), histopat tikus jantan perlakuan 28 hari (Gambar D). Tandah panah (←) menunjukan perubahan morfologi yang terjadi pada histopat pankreas tikus jantan seperti adanya degradasi melemak dan terdapat ruang kosong pada pulau Langerhans. Perbesaran yang digunakan pada masing-masing gambar adalah perbesaran 400

5.2.2 Histopatologi Pankreas Tikus Betina

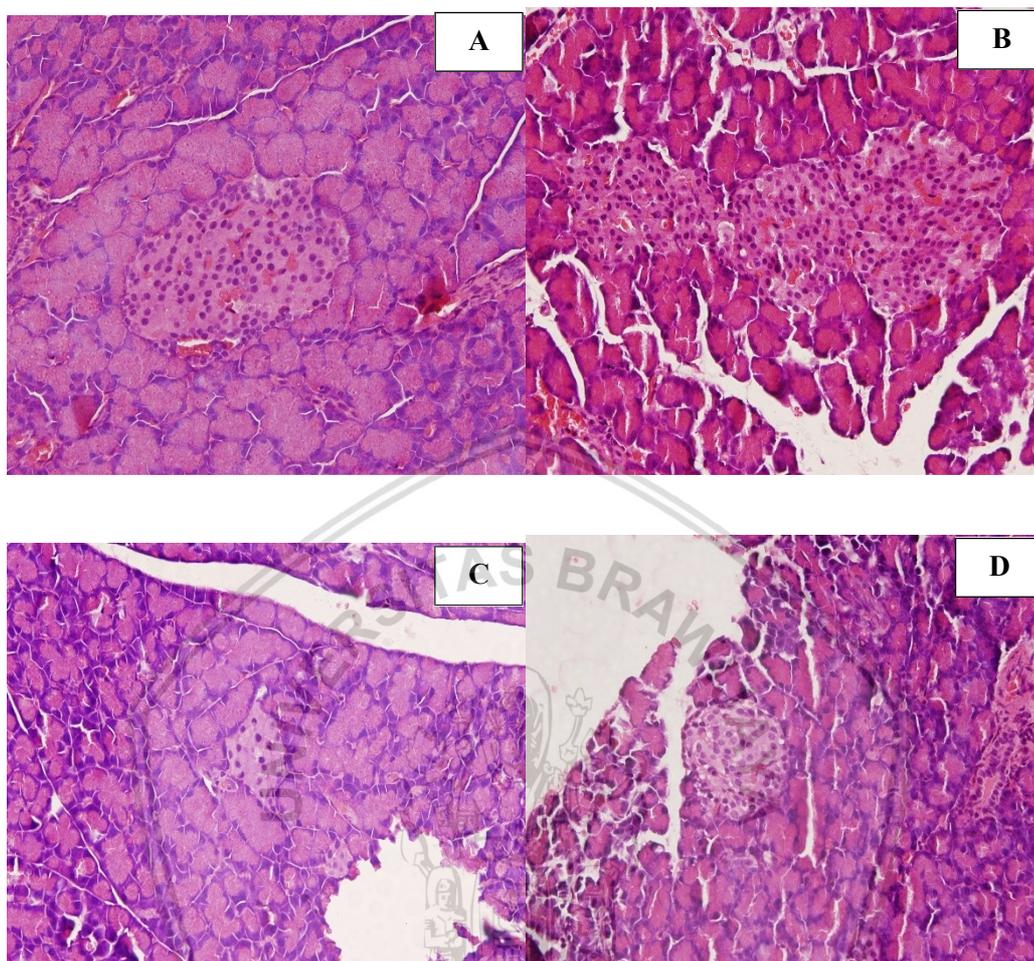
Berdasarkan pengamatan yang dilakukan pada histopat pancreas tikus putih betina dapat diketahui bahwa, pada tikus putih betina yang digunakan sebagai kontrol pada terapi selama 14 hari dapat dilihat bahwa terdapat perubahan pada susuna sel pada pankreas tikus betina yang digunakan sebagai kontrol,

dimana terdapat darah yang keluar dari pembuluh darah kapiler yang dapat dilihat pada gambaran histopat yang berwarna merah.

Sedangkan pada tikus betina yang digunakan sebagai kontrol pada terapi selama 28 hari terjadi kongesti. Pada pulau Langerhans terdapat bercak darah yang menyebabkan adanya darah yang terdapat pada ruang antara inti sel pada pulau Langerhans tikus kontrol betina terapi 28 hari. Meskipun secara keseluruhan inti sel tersebar secara merata pada pulau Langerhans dan masih tampak normal.

Tikus betina yang diterapi selama 14 hari tidak menunjukkan perubahan pada susunan sel pankreasnya. Susunan sel-sel pankreasnya tampak normal dimana tidak terdapat ruang kosong pada pulau langerhansnya karena tidak terjadi kariolisis, ukuran intisel seragam karena tidak terjadi piknosis, inti selnya dapat dilihat dengan jelas dan tidak terdapatnya endema pada sel atau pembengkakan pada sel.

Tikus betina yang diterapi selama 28 hari menunjukkan perubahan morfologi sel dimana inti selnya tidak terlihat dengan jelas dan terdapat sedikit ruang kosong yang terdapat pada pulau Langerhans meskipun secara keseluruhan pulau langerhansnya masih tampak normal.



5.2 Gambaran Histopatologi Tikus Betina

Keterangan: histopat tikus kontrol betina perlakuan 14 hari (Gambar A), histopat tikus kontrol betina perlakuan 28 hari (Gambar B), histopat tikus betina perlakuan 14 hari (Gambar C), histopat tikus betina perlakuan 28 hari (Gambar D). Tanda panah (←) menunjukkan perubahan morfologi yang terjadi pada histopat pankreas tikus betina. seperti sitoplasma yang tampak pucat dan pada tikus betina kontrol terapi 28 hari pulau Langerhans masih tampak normal meskipun terdapat bercak darah yang menunjukkan terjadinya kongesti. Perbesaran yang digunakan pada masing-masing gambar adalah perbesaran 400

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dilihat bahwa terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E menunjukkan peningkatan pada terapi yang dilakukan selama 14 hari baik terhadap tikus jantan maupun betina. Aktivitas enzim *superoksida dismutase* meningkat jika dibandingkan dengan tikus control dan pada pengamatan yang dilakukan pada histopat organ pancreas baik pada tikus jantan maupun tikus betina morfologi sel pada organ pancreas tidak mengalami perubahan atau normal.
2. Terapi kombinasi kurkumin yang dilakukan selama 28 hari menunjukkan penurunan aktivitas enzim *superoksida dismutase* pada tikus jantan dan betina jika dibandingkan dengan tikus control meskipun penurunan yang terjadi tidak menunjukkan penurunan yang signifikan, sedangkan pada pengamatan yang dilakukan pada histopat organ pancreas tikus jantan dan betina menunjukkan perubahan morfologi sel pada organ pankreas.
3. Pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E dalam jangka waktu yang lama tidak dianjurkan agar tidak menimbulkan efek samping yang dapat membahayakan bagi kesehatan pasien.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dampak yang ditimbulkan akibat pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E dalam jangka waktu yang lama.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jangka waktu yang tepat untuk pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E.



DAFTAR PUSTAKA

- Antony, S., Kuttan, R., & Kuttan, G. (1999). *Immunomodulatory activity of curcumin*. *Immunology Invest*, 28, 291-303.
- Arivazhagan, P., T. Thilakavathy and C. Panneerselvam. 2000. Antioxidant Lipoate and Tissue Antioxidant in Aged Rats. *Journal Nutr. Biochem* 11:122-127.
- Aviva System Biology. 2012. *Pathways in Cancer*. <http://www.avivasysbio.com> [diakses tanggal 25 Maret 2015].
- Commandeur, J.N. and N.P. Vermeulen, (1996). *Cytotoxicity and cytoprotective activities of natural compounds*. The case of curcumin. *Xenobiotica* 26 : 667 - 680.
- Deshpande, S.S, u.S. Deshpande and D.K salunkhe, 1985. *Nutritional and Health Aspects of Food Antioxidants dalam D.L. Madhavi: Food Antioxidant, Technological, Toxilogical and Health Perspectives*. Marcel Dekker Inc. Hongkong :361-365.
- Dickson, R. B., & Lippman, M. E. (1997). *Cancer of The Breast. Cancer: Principles & Practice of Oncology*. Vincent T. DeVita, Jr. M.D., Samuel Hellman, M.D., Steven A. Rosenberg, M.D. Ph.D. Eds; 5th Ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 36 : 1541-1616.
- Favier, A.e, 1995 *Analysis of free Radicals in biological system*. Birkauser Voulagh Basel P. 120. Switzerland.
- Ferrari, A., C. Petterino, A. Ratto, C. Campanella, R. Wurth, S. Thellung, G. Vito, F. Barbieri, and T. Florio. 2012. *CXCR4 Expression in Feline Mammary Carcinoma Cells : Evidence Proliferative Role For The SDF-1/CXCR4 Axis*. *BMC Veterinary Research* 8:27.
- Hanahan, D., and Weinberg, R. A., 2000, *The Hallmarks of Cancer*, *Cell* 100, 57-70
- Hoffman. (2004). *Progesterone Receptor Antagonists Prevent Carcinogen-Induce Cancer in Rats*, *Experimental Oncology*, Berlin. *Immunopharmacol* 8(5):688-700.
- Joe B, Vijaykumar M, Lokes RB.2004. *Biological properties of curcumin -celluler and molecular mechanisms of action.Critical review in food science and nutrition*, 44: 97-111.



- Majeed, M., Badmaev, V., Shirakumar U., and Rajendran, R. (1995). *Curcuminoids antioxidant phytonutrients*, 3-80, NutriScience Publisher Inc., PisCataway, New Jersey
- Maley, K. And L. Komasa. 2003. VET 120 *Introduction to Lab Animal Science*, Val Macer, diakses dari: <http://www.medaille.edu/vmacer>, http://www.medaille.edu/vmacer/120_lab_rodenlab1.htm [27/11/2007]
- Malole, M.B.M. dan C.S.U. Pramono. 1989. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium*. Bogor: Pusat Antar Universitas Bioteknologi Institut Pertanian Bogor.
- Maulida, D. dan Z. Naufal. 2010. *Ekstraksi Menggunakan (Likopen) dari Buah Tomat dengan Menggunakan Solven Campuran. N-Heksana, Aseton, dan Etanol*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro: Semarang.
- Meiyanto, E. (1999). *Kurkumin Sebagai Obat Anti Kanker: Menelusuri Mekanisme Aksinya*. Majalah Farmasi Indonesia, 10(4), 224-236.
- Myers, P. And D. Armitage. 2004. *Rattus Norvegicus*, *Animal Diversity Web*, http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/rattus_norvegicus.html [13 maret 2016].
- Pebriana, R.B., et al. (2008). *Docking Kurkumin dan Senyawa Analognya pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya Sebagai Selective Progesterone Receptor Modulators (SPRMs)*. PHARMACON, Vol. 9, No. 1, Juni 2008, 14-20
- Robbins, S.L., Kumar, V., & Cotran, R.Z. (2007). *Buku Ajar Patologi*. 7th ed. Vol I. Jakarta: EGC.
- Rundle, A., Tang D., Hibshoosh H., Estabrook A., Schanabel F., Cao W., Grumet S., and Perera F., 2000, *The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer*, *Carcinogenesis*, 21 (7), 1281-1289
- Sandur SK, Pandey MK, Sung B .2007. *Curcumin, bisdemethoxy curcumin, tetrahydro curcumin and turmerones differentially regulate anti-inflammatory and anti-proliferative responses through ROS independent mechanism*. *Carcinogenesis* vol 28 no.7 pp. 1765-1773.
- Sarjadi, & Trihartini, P. (2001). *Cancer registration in Indonesia*. Asian Pacific J of Cancer Prev ; 2 : 21-3.
- Sikka, S.C., M. Rajasekaran, and W.J.G. Hellstrom. 1995. Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *J. Androl*. 16(6): 464-468.

- Somasundaram, Edmund, N.A., Moore, Small, Shi, Orłowski. (2003). *Dietary Curcumin Inhibits Chemotherapy-induced Apoptosis in Models Of Human Breast Cancer*. diakses dari www.ncbi.nlm.nih.gov 2006
- Stites, D.P., Terr, A.I., & Parslow, T.G. (1997). *Medical Immunology 9th International Edition* : Appleton & Lange A Simon & Schuster Co, 65-9, 147, 631-7.
- Suckow, M.A., S.H. Weishbroth and C.I. Franklin. 2006 *The laboratory Rat. Elsevier Academic press. USA.*
- Van der Goot H. 1997. The chemistry and qualitative structure-activity relationship of curcumin. In: Pramono, S., U.A. Jenie, S.S. Retno, and G. Didik (eds.). *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochimistry (ISCP)*, 13-27. Yogyakarta: Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University.
- Varalakshmi, et al. (2008). *Immunomodulatory effects of curcumin: in-vivo*. Int.
- Verma, S.P., Goldin, B.R., & Lin, P.S. (1998). *The Inhibition of The Estrogen Effects of Pesticides and Enviromental Chemicals by Curcumin and Isoflavonoids*. *Environ Health Perspect*, 106, 12: 807–812.
- Virginia, K.L., et al. (1993). *Breast cancer*. In: Philip R, Sandra M, Raman Q, editors. *Clinical oncology*. 7th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 187-94