

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hewan model kanker mammae

Hewan model kanker mammae dengan induksi DMBA 10 mg/kg BB sebanyak 10 kali dengan interval 48 jam atau 2 hari, secara *subcutan* pada mammae dan estrogen dengan dosis 20.000 IU/kg BB empat hari sekali secara *intramuscular* dapat dilihat keberhasilannya dengan cara pemeriksaan nodul pada jaringan sekitar mammae. Nodul adalah benjolan pada kelenjar mammae yang bermassa padat dan tidak dapat digerakkan. Pemeriksaan nodul dilakukan dengan palpasi atau perabaan yang dilakukan seminggu sekali. Pernyataan tersebut sesuai dengan pernyataan Wongso dkk (2013), yang menyatakan bahwa tikus yang mengalami kanker mammae akan terlihat adanya benjolan (nodul) di sekitar mammae yang bermassa keras dan bentuknya tidak beraturan. Sedangkan untuk ukuran nodul tergantung dari lamanya kanker tersebut tumbuh pada jaringan mammae tikus serta daya imunitas tikus tersebut. Nodul kanker pertama muncul pada hari ke 14 setelah induksi DMBA dosis 10 mg/kg BB berupa massa padat yang dapat dilihat pada **lampiran 18**, dan diketahui bahwa pada penelitian ini pada hari ke 28 nodul semakin membesar, mengeras, dan tidak dapat digerakkan, hal tersebut sebagai bukti bahwa induksi DMBA yang diberikan mampu membuktikan terbentuknya kanker mammae.

Nodul kanker terbentuk melalui perkembangan sel yang berlebih (proliferasi) sehingga membentuk massa padat, dan bentuknya tidak beraturan.

Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Putri, 2015), dengan induksi DMBA dosis 10 mg/kg BB sebanyak 10 kali dengan interval 48 jam atau 2 hari secara subcutan, hasil pengamatan mikroskopis kelenjar mammae menunjukkan bahwa nodul yang terbentuk adalah berupa proliferasi sel epitel yang berkembang menjadi sel kanker.

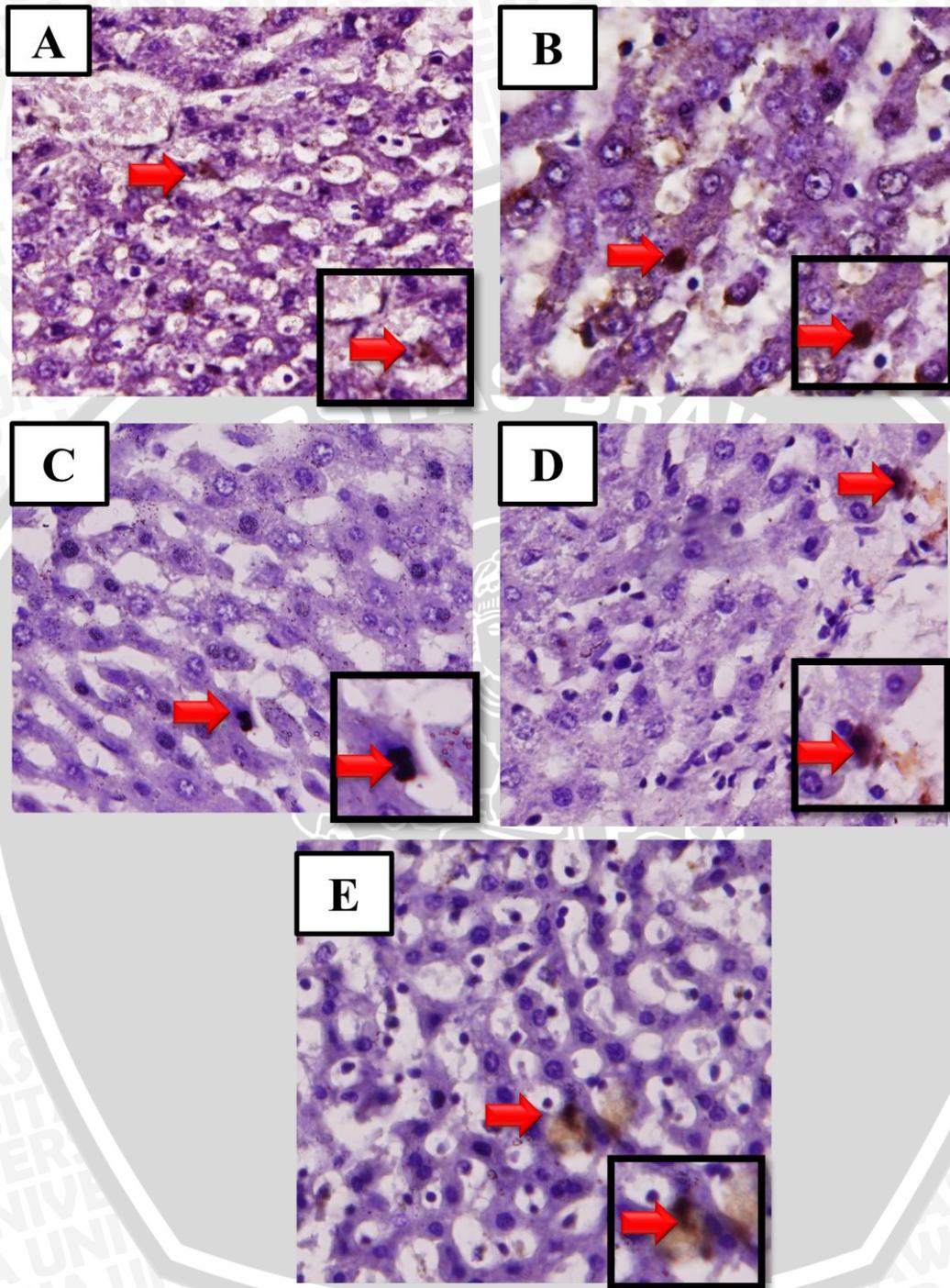
Nodul akan bertambah besar ukurannya hingga pada akhirnya nodul akan pecah (Wongso dkk, 2013). Hasil penelitian yang dilakukan Meiyanto dkk (2007) menyatakan bahwa pembuatan hewan model kanker mammae dengan menggunakan tikus betina galur Sprague Dawley umur 50 hari, induksi DMBA dengan dosis 20mg/kgBB yang diberikan 2 kali seminggu dan pemberian selama lima minggu, nodul muncul pada induksi hari ke 21. Sedangkan dalam penelitian ini menggunakan DMBA dengan dosis 10 mg/kg BB lebih cepat dalam pembentukan nodul yaitu pada hari ke 14 setelah induksi DMBA pertama, dikarenakan induksi DMBA secara subcutan pada mammae agar paparan DMBA langsung menuju organ target yaitu kelenjar mammae.

Pernyataan Kuhl (2013) menyatakan bahwa penelitian DMBA akan tereliminasi sebanyak 90% setelah induksi 48 jam. Sehingga dilakukan penelitian dengan induksi DMBA setiap dua hari sekali agar DMBA tetap stabil didalam darah dan proses metabolit reaktif dari DMBA terjadi lebih banyak sehingga inisiasi kanker dapat berlangsung lebih cepat. Sedangkan pemberian estradiol bertujuan untuk mempercepat terjadinya kanker mammae. Menurut Kwi *et al* (2012), menyatakan bahwa estradiol bertujuan mampu meregulasi peningkatan ekspresi P450 melalui ikatannya dengan *estrogen receptor* (ER). Dengan

demikian, pemberian estradiol mampu meregulasi sitokrom P450 untuk mempercepat metabolisme DMBA. Semakin banyaknya DMBA yang termetabolisme, maka kanker yang terbentuk akan semakin cepat.

5.2 Pengaruh Terapi Kombinasi Curcumin dan vitamin E Terhadap Ekspresi Sitokrom P450 Hepar pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Kanker Mammae Hasil Induksi DMBA

Ekspresi sitokrom P450 pada hewan model kanker dapat dilihat dengan metode imunohistokimia (IHK). Ekspresi sitokrom P450 pada pewarnaan IHK ditandai dengan adanya warna coklat yang diperoleh dari ikatan antara antigen dan antibodi. Berdasarkan hasil pengamatan menggunakan metode imunohistokimia, ekspresi sitokrom P450 tampak berwarna coklat pada bagian sitoplasma pada sel hepar tikus (*Rattus norvegicus*) kelompok kontrol negatif, kontrol positif, terapi 1, 2, dan 3 ditunjukkan pada **Gambar 5.1**.



Gambar 5.1 Ekspresi Sitokrom P450 pada hepar tikus (Perbesaran 400x). Ket: (A)= Hepar tikus kelompok kontrol negatif; (B) = Hepar tikus kelompok perlakuan (pasca induksi DMBA 10 mg/kg BB dan estrogen 20.000 IU/kg BB); (C)= Hepar tikus terapi dosis 1; (D)= Hepar tikus terapi dosis 2; (E)= Hepar tikus terapi dosis 3, (\blacktriangleright) = warna coklat ekspresi sitokrom P450.

Hasil pengamatan ekspresi sitokrom P450 pada **Gambar 5.1** kelompok kontrol negatif (KN) tampak terlihat ekspresi sitokrom P450 pada bagian sitoplasma dengan jumlah yang sedikit. Sedangkan pada kontrol positif (KP) tampak lebih banyak ekspresi sitokrom P450 dibandingkan dengan kelompok KN. Untuk hasil terapi dosis 1 ekspresi sitokrom P450 mengalami penurunan. Hasil tetapi dosis 2 yang paling efektif dalam merunutkan ekspresi sitokrom P450. Sedangkan untuk terapi dosis 3 di dapat hasil yang paling sedikit dalam menurunkan ekspresi sitokrom P450. Banyaknya ekspresi sitokrom P450 diukur secara kuantitatif melalui pengukuran persentase area pada hepar yang menunjukkan ekspresi berwarna coklat. Perhitungan rata-rata persentase area diambil dari 5 lapang pandang dengan perbesaran 400x dan hasilnya dianalisa menggunakan software *Axio vision*. Persentase area ekspresi sitokrom P450 pada hepar ditampilkan pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1 Rata- rata Presentase Area Ekspresi Sitokrom P450 pada Hepar Tikus Hewan Model Kanker Mammae

Kelompok	Rata- rata ekspresi P450 ± SD	Peningkatan terhadap (%)	Penurunan terhadap (%)
Kelompok Negatif	1,649 ± 0,092 ^a	-	-
Kontrol positif	26,242 ± 3,394 ^d	1491,4 %	-
Terapi dosis 1	7,078 ± 0,26 ^c	-	73 %
Terapi dosis 2	4,749 ± 0,285 ^b	-	81 %
Terapi dosis 3	8,184 ± 0,501 ^c	-	68 %

Keterangan: Perbedaan notasi a, b, dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antar kelompok perlakuan.

Hasil rata- rata presentase area ekspresi Sitokrom P450 pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa rata-rata presentase area kelompok Kontrol Positif (KP)

lebih tinggi dibandingkan kelompok Kontrol Negatif (KN). Pada kelompok KP atau hewan coba yang diinduksi DMBA terjadi peningkatan presentase sebesar 1491,4% jika dibandingkan dengan kelompok KN (perhitungan dijelaskan pada **Lampiran 19**). Sedangkan untuk hewan coba yang dilakukan terapi dengan kombinasi *curcumin* dan vitamin E mampu menurunkan ekspresi sitokrom P450 secara signifikan. Untuk selanjutnya data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA dan uji BNJ (Beda Nyata Jujur) dengan software SPSS. Hasil uji ANOVA ekspresi sitokrom P450 menunjukkan bahwa setiap kelompok perlakuan memiliki beda nyata.

Hasil ekspresi sitokrom P450 organ hepar kelompok KN adalah $1,649 \pm 0,092$. Nilai tersebut menunjukkan standart nilai ekspresi P450 pada tikus dalam keadaan normal dan digunakan untuk acuan menentukan adanya penurunan atau peningkatan ekspresi. Ekspresi sitokrom P450 terdapat pada kontrol negatif disebabkan karena pada keadaan normal sitokrom P450 berfungsi untuk menghidroksilasikan (menguraikan) zat-zat xenobiotik (Cairns, 2004). Senyawa PAH dapat meningkatkan *CYP1A1* melalui interaksi dengan Ahr. Enzim *CYP1A1* akan mengubah substrat berupa senyawa reaktif pada saat senyawa prokarsinogenik berinteraksi dengan Ahr. Senyawa reaktif dan AhR akan bertranslokasi ke nukleus dan menginduksi transkripsi CYP (Anshor dkk, 2013).

Hasil kenaikan ekspresi sitokrom P450 yang terjadi secara signifikan terdapat pada kelompok Kontrol Positif (KP) yaitu dengan presentase 1491,4 %. Dari uji statistika yaitu BNJ di dapat hasil KP berbeda nyata dengan kelompok

kontrol negatif (KN), hasil ini dibuktikan dari perbedaan notasi pada KP dan KN. Hasil tersebut menyatakan bahwa induksi DMBA yang dilakukan mampu mempengaruhi peningkatan ekspresi sitokrom P450. Senyawa DMBA akan berikatan dengan AhR sebagai reseptor kemudian berikatan dengan *Aryl Receptor Nuclear Translocator* (ARNT). Senyawa DMBA yang masuk akan mengaktivasi sitokrom P450 untuk membantu metabolisme DMBA. Sitokrom P450 akan mengoksidasi DMBA menjadi 7,12 DMBA 3,4 oxide kemudian di hidrolisis oleh *microsomal epoxide hydrolase* (meH) menjadi 7,12 DMBA 3,4 diol. Senyawa 7,12 DMBA 3,4 diol di oksidasi lagi oleh sitokrom P450 menjadi 7,12 DMBA 3,4 diol 1,2 epoxide (*Epoksida dehidrodiol*). Aktivitas sitokrom P450 yang digunakan untuk mengoksidasi DMBA akan menyebabkan ekspresi sitokrom P450 meningkat. Pernyataan tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sahrial (2009), pada kelompok kontrol positif DMBA dengan dosis 20 mg/kg BB presentase ekspresi CYP1A1 tinggi bila dibanding dengan kelompok kontrol negatif, hal tersebut dikarenakan tidak ada senyawa yang menghambat aktivasi CYP1A1.

Berdasarkan **Tabel 5.1**, dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, hasil ekspresi sitokrom P450 pada kelompok terapi dosis 1 menghasilkan penurunan 73%. Sesuai dengan hasil uji BNJ kelompok terapi dosis 1 berbeda nyata dengan KN dan KP yang ditunjukkan dengan perbedaan notasi. Hasil kelompok terapi dosis 1 berbeda tidak nyata dengan kelompok terapi dosis 3 dengan ditunjukkan dengan hasil notasi yang sama. Terjadinya penurunan ekspresi sitokrom P450 pada terapi dosis 1 karena kombinasi curcumin dosis

48mg/kg BB dapat digunakan sebagai terapi kanker dengan penyembuhan sebesar 50%, sesuai dengan pendapat Jurenka (2009). Pada terapi 1 juga dilakukan pemberian terapi dengan vitamin E sebesar 300 IU/ ekor, dalam hal ini vitamin E mampu membantu kerja curcumin sebagai terapi kanker. Menurut Arab (2000), vitamin E dengan dosis 100 IU- 400 IU dapat digunakan sebagai terapi kanker. Berdasarkan pernyataan tersebut, dimungkinkan pemberian kombinasi curcumin dengan dosis rendah dan vitamin E dengan dosis tinggi mampu menurunkan ekspresi sitokrom P450.

Hasil terapi dosis 2 menurunkan ekspresi sitokrom P450 sebesar 81%. Dari uji statistika dengan BNJ hasil terapi dosis 2 berbeda nyata dengan KP yang ditunjukkan dengan perbedaan notasi. Hasil terapi dosis 2 ini juga berbeda nyata dengan KN, tetapi hasil terapi ini yang merupakan dosis terapi terbaik yang mendekati KN. Pemberian terapi dosis 2 ini dengan terapi kombinasi curcumin sebesar 72 mg/kg BB merupakan dosis yang efektif sebagai terapi kanker karena menurut Jurenka (2009) dosis curcumin 20 -80 mg/kg BB dapat digunakan sebagai terapi. Dosis kombinasi vitamin E yang digunakan 200 IU/ ekor dapat digunakan sebagai sebagai terapi kanker yang efektif karena menurut Arab (2000) dosis terapi vitamin E 100-400 IU/ekor dapat digunakan sebagai terapi kanker. Sehingga dimungkinkan pada terapi dosis 2 ekspresi sitokrom P450 terjadi penurunan yang signifikan karena dosis kombinasi curcumin dan vitamin E yang seimbang.

Hasil terapi dosis 3 terjadi penurunan sebesar 68%. Hasil uji statistika dengan BNJ terapi dosis 3 berbeda nyata dengan KN dan KP yang ditunjukkan dengan perbedaan notasi. Sedangkan terapi dosis 3 berbeda tidak nyata dengan kelompok terapi dosis 1 yang ditunjukkan dengan hasil notasi yang sama, hal ini dimungkinkan karena dosis terapi 1 dan dosis terapi 3 belum efektif untuk menurunkan ekspresi sitokrom P450. Pada hasil terapi menggunakan kombinasi curcumin dengan dosis 108 mg/kg BB, terjadi sedikit penurunan ekspresi sitokrom P450 dibandingkan terapi dosis 1 dan 2. Penurunan ini disebabkan karena dosis curcumin merupakan dosis yang tinggi dimungkinkan bersifat prooksidan, pernyataan ini sesuai dengan Jurenka (2009) bahwa dosis curcumin yang dapat digunakan sebagai terapi kanker sebesar 20-80 mg/kg BB. Untuk dosis kombinasi terapi vitamin E digunakan 100 IU/ ekor, dosis tersebut merupakan dosis terendah untuk terapi kanker, sehingga didapat hasil penurunan ekspresi sitokrom P450 yang tidak terlalu besar.

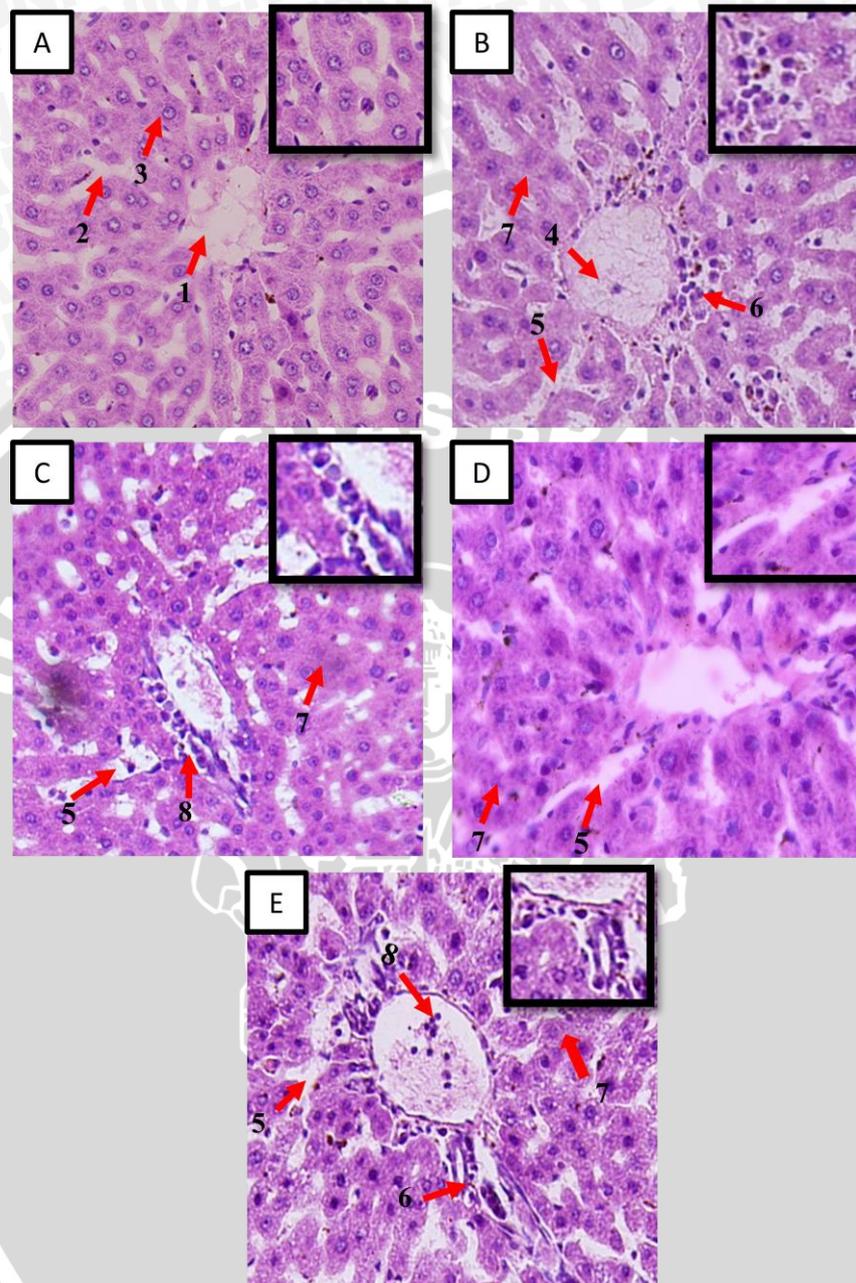
Curcumin mengandung polifenol yang larut dalam air. Mekanisme *curcumin* sebagai antioksidan yaitu menangkap radikal bebas dengan cara menyumbangkan salah satu atom hidrogen ke dalam radikal bebas sehingga menjadi radikal bebas yang kurang reaktif. Selain itu *curcumin* memiliki sifat sulit diserap oleh tubuh dan banyak diekskresikan keluar tubuh sehingga perlu adanya kombinasi antioksidan lainnya (Sari, 2008). Antioksidan lain sebagai kombinasi terapi adalah vitamin E mengandung tocoferol yang larut dalam lemak, sehingga vitamin E dapat langsung bekerja di membran. Selain itu vitamin E sendiri mudah teroksidasi, sehingga mampu melindungi senyawa lain dari oksidasi. Sesuai

dengan pernyataan Heri (2007), bahwa vitamin E merupakan antioksidan nonenzimatik yang melindungi membran sel dari oksidasi oleh radikal bebas. Sehingga disini fungsi dari vitamin E adalah membantu *curcumin* untuk memperbaiki membran sel yang telah rusak akibat radikal bebas. Selain itu menurut pernyataan Sari (2008) kombinasi dari beberapa jenis antioksidan memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap oksidasi dibandingkan dengan satu jenis antioksidan saja.

5.3 Gambaran Histopatologi Hepar Pasca Induksi DMBA Pada Tikus Model Kanker Mammae

Gambaran histopatologi hepar dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) yang selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x dan dilakukan pada semua lapang pandang. Pemberian induksi DMBA dan estrogen serta terapi kombinasi *curcumin* dan vitamin E selain berpengaruh pada peningkatan ekspresi sitokrom P450 juga berpengaruh pada gambaran histopatologi hepar. Hasil histopatologi ditunjukkan pada

Gambar 5.2



Gambar 5.2 Gambaran histopatologi jaringan hepar (perbesaran 400x)
 Keterangan: 1.Vena sentralis, 2.Sinusoid, 3.Hepatosit, 4. Vena sentralis dilatasi, 5.pelebaran sinusoid, 6.Infiltrasi sel radang di antara hepatosit 7.Nekrosis, 8.Infiltrasi sel radang di dalam vena sentralis; (A):kontrol negatif, (B):kontrol positif, (C) terapi dosis 1, (D):terapi dosis 2, (E):terapi dosis 3.

Hasil gambaran histopatologi hepar kelompok kontrol negatif (A) menunjukkan hasil dalam keadaan normal yang meliputi sel hepatosit yang berinti utuh, vena sentralis, dan sinusoid yang berada disekitarnya. Pernyataan tersebut sesuai dengan pendapat Lumongga (2008) yaitu sel hepatosit tersusun radier didalam lobulus hati, pada hepatosit bisa dijumpai adanya satu inti atau beberapa inti di tengah sel. Permukaan hepatosit berhubungan antara satu dengan yang lain yang dibatasi oleh sinusoid. Sedangkan pusat dari seluruh metabolisme sel pada hepar terletak pada vena sentralis. Pada keadaan normal hepar memiliki fungsi sebagai organ pertama yang dicapai oleh obat atau zat xenobiotik yang diabsorpsi usus melalui vena porta, sehingga dapat dinyatakan bahwa hepar merupakan tempat utama metabolisme dan detoksifikasi obat. Penumpukan bahan-bahan toksik dalam parenkim hati dapat melukai sel hepatosit dan menyebabkan terjadinya perubahan histopatologis yang bervariasi (Himawan, 1992).

Hasil gambaran histopatologi untuk kelompok kontrol positif (B) induksi DMBA dengan dosis 10 mg/kg BB dan estrogen dengan dosis 20.000 IU/kg BB terdapat infiltrasi sel radang disekitar hepatosit, pelebaran sinusoid, dilatasi pada vena sentralis, dan nekrosis. DMBA yang di induksikan secara *subcutan* ke dalam hewan coba dianggap benda asing bagi tubuh sehingga mengeluarkan sinyal transduksi untuk mengeluarkan sistem imun sebagai pertahanan tubuh yaitu berupa neutrofil. Apabila neutrofil tidak dapat mengeliminasi agen infeksi maka neutrofil akan mengaktifasi monosit. Monosit dalam pembuluh darah menyebabkan teraktifasinya mediator inflamasi terdiri dari vasoaktif amine (histamine dan serotonin), protease plasma (kinin, leukotriene

dan prostaglandin), menyebabkan dilatasi pembuluh darah atau di vena sentralis. Sesuai dengan pendapat Arimbi (2013) bahwa plasma protease diproduksi di dalam sel hepar salah satunya kinin. Kinin adalah salah satu mediator inflamasi yang berfungsi untuk pembentukan bradikinin, bradikinin ini yang berefek peningkatan permeabilitas pembuluh darah (dilatasi). Peningkatan permeabilitas pembuluh darah akan memudahkan sitokin masuk dalam jaringan. Selain itu akibat dari dilatasi pembuluh darah, maka darah yang mengalir di daerah radang akan memicu kontraksi pada sel endotel di dinding kapiler, hal ini menimbulkan celah antar endotel. Celah antar endotel menyebabkan banyak sel radang masuk ke jaringan sehingga menyebabkan sinusoid melebar. Monosit yang mengaktifkan mediator inflamasi dalam pembuluh darah akan bermaturasi ke jaringan menjadi makrofag.

Prosesnya maturasi monosit menjadi makrofag di jaringan dimulai dengan monosit bergerak ke tepi pembuluh darah (*marginasi*) dan bermigrasi pelan-pelan sepanjang permukaan endotel (*rolling*) pada aliran darah kemudian sel-sel tersebut akan melekat (*adhesi*) dan melapisi permukaan endotel. Selanjutnya terjadi proses migrasi, yaitu proses perpindahan monosit yang bergerak keluar dari pembuluh darah. Tempat utama migrasi neutrofil adalah pertemuan antar sel endotel. Setelah meninggalkan pembuluh darah, monosit mengalami pematangan menjadi makrofag di jaringan bergerak menuju ke arah terjadinya agen infeksi (Robbins & Kumar, 1995). Dengan adanya makrofag sehingga teraktivasi sitokin dan menyebabkan infiltrasi sel darang diantara sel hepatosit. Infiltrasi sel radang pada kelompok kontrol positif ini merupakan sel

radang neutrofil yang ditunjukkan dengan inti sel yang berlobus, sitoplasma tampak jernih dan bergranul. Adanya Infiltrasi sel radang neutrofil disekitar hepatosit ini sesuai dengan pernyataan Buttefield *et al* (2006) yang menyatakan bahwa neutrofil merupakan salah satu responden pertama sel-sel inflamasi untuk bermigrasi ke jaringan yang mengalami peradangan. Meskipun neutrofil berfungsi sebagai penghancur mikroorganismen tetapi juga dapat merusak sel maupun jaringan. Selain itu sel radang merupakan respon tubuh karena adanya inflamasi dan macam- macam sel radang antara lain neutrofil, basofil, eosinofil, limfosit, dan monosit. Akan tetapi sel radang yang lebih dahulu muncul yaitu neutrofil, oleh sebab itu pada kasus inflamasi akut, banyak ditemukan infiltrasi neutrofil. Infiltrasi sel radang yang terus menerus dan dengan adanya infiltrasi sel radang agen infeksi tidak dapat di hancurkan maka akan terjadi kematian sel atau nekrosis.

Nekrosis merupakan degradasi atau disorganisasi seluler yang *irreversibel* atau kematian sel jaringan tubuh. Inti menjadi lebih padat (piknotik) yang dapat hancur bersegmen-segmen (karioreksis) dan kemudian sel menjadi eosinofilik. Terjadinya nekrosis pada hepatosit, dapat diketahui dengan adanya perubahan pada sitoplasma dan inti selnya. Pada kelompok KP ini termasuk dalam nekrosis koagulatif, dimana jaringan tetap untuk tetapi inti sel mengalami kariolisis dan terdapat infiltrasi sel radang. (Jawi dkk., 2006).

Hasil gambaran histopatologi kelompok terapi 1 menunjukkan masih terjadi infiltrasi sel radang pada vena sentralis dan adanya pelebaran sinusoid. Akan tetapi, infiltrasi sel radang di vena sentralis, nekrosis pada terapi 1 ini,

menunjukkan bahwa sebagian besar sel radang hanya terdapat pada vena sentralis dan tidak keluar menginvasi sel hepatosit di luar vena sentralis. Sesuai dengan pendapat Aprianti dkk (2014) bahwa terjadinya infiltrasi sel radang pada vena sentralis disebabkan sel endotel yang rusak. Hepar yang mengalami peradangan dimulai pada vena sentralis karena menjadi tempat penampungan darah yang berasal dari vena porta serta arteri hepatica. Peradangan tidak keluar menginvasi sel hepatosit karena dihambat oleh kombinasi terapi *curcumin* dan vitamin E. Pada kelompok terapi 1, dosis vitamin E ada pada nilai yang tertinggi, sedangkan dosis *curcumin* ada pada nilai yang terendah dibandingkan nilai pada kelompok terapi yang lainnya.

Berdasarkan hasil yang telah didapat, dengan penggunaan kombinasi dosis seperti pada terapi 1, diketahui masih memberikan hasil terapi yang cukup baik. Pada kelompok terapi 1, dosis *curcumin* yang digunakan adalah sebesar 48 mg/kg BB dengan dosis vitamin E 300 IU/ekor. Menurut penelitian Jurenka (2009), penggunaan *curcumin* dengan dosis 48 mg/kg BB hanya memiliki efektifitas farmakologi sebesar 50%. Berdasarkan pernyataan tersebut, dapat dimungkinkan bahwa pada terapi 1, hasil yang didapat belum maksimal karena dosis *curcumin* yang digunakan hanya mampu memberikan efek terapi sebesar 50%. Akan tetapi, kelompok terapi 1 masih memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan dengan terapi 3, karena pemberian terapi pada dosis ini vitamin E yang tinggi, dimungkinkan mampu membantu kerja *curcumin* sebagai terapi kanker. Pernyataan tersebut sesuai dengan Arab dkk (2000) yang menyatakan bahwa terapi vitamin E dengan dosis 100 - 400 IU/ekor telah mampu digunakan untuk

terapi kanker. Berdasarkan pernyataan tersebut, meskipun kerja curcumin masih belum maksimal, tetapi dosis vitamin E yang tinggi mampu membantu kerja curcumin sehingga hasil yang diperoleh cukup baik.

Hasil terapi yang terbaik ditunjukkan oleh kelompok terapi dosis 2 dimana terjadi penurunan infiltrasi sel radang diantara hepatosit, terjadi pelebaran sinusoid, dan nekrosis. Pemberian dosis *curcumin* dan vitamin E pada terapi 2 ini ada dalam keadaan yang seimbang. Kombinasi dosis tersebut diketahui mampu memberikan hasil yang paling signifikan, hal ini dimungkinkan karena baik dosis curcumin maupun vitamin E yang digunakan masih merupakan dosis efektif yang dapat digunakan dalam terapi kanker. Seperti yang disebutkan oleh Jurenka (2009), dosis efektif curcumin yang digunakan sebagai terapi adalah 20-80 mg/kg, sedangkan dosis terapi vitamin E yang efektif sebesar 100-400 IU/ekor (Arab, 2000). Berdasarkan pernyataan diatas, pemberian dosis curcumin sebesar 72 mg/kg BB dan vitamin E sebesar 200 IU/ekor sama-sama merupakan dosis efektif dalam terapi. Oleh sebab itu, dimungkinkan kerja curcumin dan vitamin E pada dosis 2 ini dapat maksimal dan memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok terapi 1 dan 3. Berdasarkan **Gambar 5.2.D** menunjukkan bahwa dosis terapi yang digunakan dalam terapi 2 mampu memberikan efek yang paling baik dari kombinasi curcumin dan vitamin E sebagai antioksidan dengan kemampuannya dalam menangkap radikal bebas sehingga menghambat proses inflamasi. Hal ini diperkuat dengan hasil yang menunjukkan berkurangnya infiltrasi sel radang pada terapi 2, baik pada vena sentralis maupun hepatosit dan sinusoid, sebagai bukti bahwa terjadi penurunan inflamasi.

Hasil terapi dosis 3 kurang efektif dalam memperbaiki gambaran histopatologi hepar karena infiltrasi sel radang diantara hepatosit masih banyak ditemukan, terjadi dilatasi vena sentralis, pelebaran sinusoid, dan nekrosis. Hasil gambaran tersebut terjadi karena dosis *curcumin* yang digunakan merupakan dosis paling tinggi dalam penelitian ini dan melebihi batas maksimal dosis terapi *curcumin* pada tikus. Pendapat ini sesuai dengan Jurenka (2009) bahwa dosis *curcumin* yang digunakan untuk tikus sebesar 20-80 mg/kg dapat mengurangi inflamasi. Pada kelompok terapi 3, dosis *curcumin* yang diberikan adalah sebesar 108 mg/kg BB. Tingginya dosis yang diberikan ini kemungkinan menyebabkan efek toksis dari *curcumin* sehingga efek antioksidan dari *curcumin* berubah menjadi prooksidan. Sedangkan untuk vitamin E kelompok terapi dosis 3 sebesar 100 IU/ ekor merupakan dosis terendah dalam penelitian ini. Pada penelitian yang dilakukan oleh Arab (2000), menunjukkan bahwa vitamin E mampu digunakan sebagai terapi kanker pada dosis 100 – 400 IU/ekor. Rendahnya dosis vitamin E yang digunakan dalam terapi 3 memungkinkan merupakan penyebab kurang efektifnya terapi 3 karena kerja vitamin E yang tidak maksimal sebagai terapi dan tingginya dosis *curcumin* yang menjadi prooksidan dalam tubuh, sehingga kombinasi dari kedua dosis ini tidak memberikan hasil yang signifikan.

Hasil menunjukkan bahwa kombinasi *curcumin* dan vitamin E mampu memperbaiki histopatologi sel hepar. Penurunan infiltrasi sel radang diakibatkan karena kombinasi terapi dari *curcumin* dan vitamin E berfungsi sebagai antioksidan yang menangkap radikal bebas sehingga menghambat pengeluaran faktor transkripsi Nf-kB. Dimana pernyataan ini sesuai dengan Nurmatin (2014)

curcumin menghambat aktivasi faktor transkripsi Nf-kB sehingga menekan respon inflamasi. Kombinasi tersebut juga dapat memperbaiki pelebaran sinusoid menjadi mendekati sinusoid pada keadaan normal karena pengikatan radikal bebas oleh curcumin dan vitamin E menginaktivasi sel kupfer sehingga terjadi perbaikan pelebaran sinusoid melalui penghambatan pelepasan mediator inflamasi. Pernyataan ini sesuai dengan Wulandari (2006) sel kupffer merupakan monosit-makrofag, dan fungsi utamanya adalah pertahanan melawan invasi bakteri dan agen toksik. Adanya sel nekrosis yang masih tampak terlihat pada kelompok terapi kemungkinan besar disebabkan karena curcumin dan vitamin E yang diberikan secara kuratif belum mampu memperbaiki kerusakan akibat nekrosis. Hal ini juga diperkuat dengan terlihatnya penurunan jumlah sel radang pada kelompok terapi. Sel yang mengalami nekrosis akan diperbaiki dengan cara meningkatkan jumlah sel radang pada jaringan untuk selanjutnya memfagositosis sel-sel nekrosis dan merubahnya menjadi jaringan ikat. Sesuai dengan pernyataan Arimbi (2013) hasil reaksi peradangan adalah netralisasi dan pembuangan agen penyerang, penghancuran jaringan nekrosis serta pembentukan perbaikan dan pemulihan pada jaringan.

Hasil terapi curcumin dan vitamin E juga menunjukkan adanya perbedaan gambaran histopatologi antara tiap-tiap kelompok terapi. Perbedaan hasil ini dapat disebabkan karena perbedaan dosis yang diberikan pada tiap kelompok. Jumlah dosis terapi yang diberikan diketahui merupakan salah satu faktor yang menentukan hasil histopatologi hepar pada terapi kanker mammae.

Hasil terapi kombinasi curcumin dan vitamin E yang menunjukkan hasil terbaik yaitu dosis curcumin 72 mg/kg BB dan vitamin E 200 IU/ ekor.

