

ARTIKEL PENELITIAN

Efek Protpektif Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap Gambaran Histopatologi pada Sel Tumor Payudara Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Betina Galur *Sprague Dawley* Diinduksi 7,12 *Dimethylbenz(α)Anthracene*Afifah Nurkarnia¹, Muhammad In'am Ilmiawan², Sari Eka Pratiwi³

1. Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat; 2. Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat; 3. Departemen Biologi dan Patobiologi, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat

Korespondensi: Afifah Nurkarnia; nurkarniaafifah@gmail.com; 089676245298**Abstrak**

Tujuan: Mengetahui pengaruh ekstrak etanol umbi bawang dayak terhadap gambaran histopatologi pada sel tumor payudara tikus betina galur *Sprague Dawley* yang diinduksi 7,12 *dimethylbenz(α)anthracene* (DMBA). **Metode:** Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post-test only control group*. Induksi tumor payudara diberikan secara oral dengan dosis DMBA yang digunakan 20 mg/kgBB. DMBA diberikan 10 kali yaitu 2x seminggu selama 5 minggu. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok normal, kelompok kontrol negatif (DMSO 5%) kelompok kontrol positif (tamoxifen), kelompok perlakuan I (ekstrak bawang dayak 180 mg/kg BB), kelompok perlakuan II (ekstrak bawang dayak 360 mg/kg BB) dan kelompok perlakuan III (ekstrak bawang dayak 720 mg/kg BB). **Hasil:** Data gambaran histologi dianalisis menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p=0,006$) antar kelompok. Hasil uji statistik *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan I dan kelompok kontrol negatif ($p=0,015$), kelompok perlakuan II dan kelompok kontrol negatif ($p=0,011$), serta kelompok perlakuan III dan kelompok kontrol negatif ($p=0,015$). **Kesimpulan:** Ekstrak etanol umbi bawang dayak dosis 180 mg/kgBB, 360 mg/kgBB, dan 720 mg/kgBB mempunyai efek terhadap penghambatan gambaran histopatologi sel tumor payudara tikus.

Kata kunci: *Eleutherine bulbosa*; Anti-kanker; Histopatologi; Tumor payudara; 7,12 *Dimethylbenz(α)anthracene*

Abstract

Objective: To determine the effect of ethanol extract of dayak onion bulb on histology of mammary tumor cells in female *Sprague Dawley* rats strains that were induced by 7,12 *dimethylbenz(α)anthracene* (DMBA). **Methods:** The design of this study was a *post-test only control group*. DMBA (20 mg/kgBW) was given peroral twice a week for five weeks. In this research 30 female *Sprague-Dawley* rats were used and divided into 6 groups. Normal group weren't treated DMBA; negative control group were treated DMBA and DMSO 5%; positive control group were treated DMBA and tamoxifen; treatment I group were treated DMBA and extract 180 mg/kgBW; treatment II group were treated DMBA and extract 360 mg/kgBW; and treatment III group were treated DMBA and extract 720 mg/kgBW. **Results:** The histology data has analyzed with *Kruskal-Wallis* and continued

with Mann-Whitney. Kruskal Wallis test showed significant difference with $p=0,006$ in groups. Mann Whitney test showed significant difference between treatment I and negative control group ($p=0,015$); treatment II and negative control group ($p=0,011$); treatment III and negative control group ($p=0,015$). **Conclusion:** Ethanol extract of dayak onion bulb at dose 180 mg/kgBW, 360 mg/kgBW, and 720 mg/kgBW have an effect on histology of mammary tumors in female Sprague Dawley rats that were induced by 7,12 dimethylbenz(α)anthracene (DMBA).

Keywords: *Eleutherine bulbosa*; Anti-cancer; Histopathology; Mammary tumor; 7,12 Dimethylbenz(α)anthracene

PENDAHULUAN

Kanker adalah pertumbuhan yang tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh yang berubah menjadi ganas. Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia.¹ Berdasarkan data dunia dari *Global Burden of Cancer* (GLOBOCAN), *International Agency for Research on Cancer* (IARC), pada tahun 2018 diperkirakan terdapat 18,1 juta kasus baru kanker dan 9,6 juta kematian akibat kanker. Kanker payudara merupakan kanker yang paling umum didiagnosis pada perempuan yaitu sebesar 24,2% dari 8,6 juta kasus baru kanker yang didiagnosis pada perempuan dan menempati urutan pertama kematian akibat kanker pada perempuan yaitu 15,0% dari 4,2 juta kasus.² Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, kanker payudara mempunyai prevalensi tertinggi kedua di Indonesia setelah kanker serviks pada tahun 2013 dengan angka kejadian 0,05% dari populasi penduduk perempuan dengan estimasi penderita absolut sebanyak 61.682 jiwa. Prevalensi kanker payudara di Kalimantan Barat sebesar 0,02% dari populasi penduduk perempuan dengan estimasi penderita absolut sebanyak 441 jiwa.³

Kanker payudara merupakan keganasan pada jaringan payudara yang dapat berasal dari epitel duktus maupun lobulusnya. Faktor risiko kanker payudara antara lain jenis kelamin wanita, usia >50 tahun, riwayat keluarga dan genetik (pembawa mutasi gen BRCA1, BRCA2, ATM atau TP53 (p53)), riwayat penyakit payudara sebelumnya (*ductal carcinoma in situ* (DCIS) pada payudara yang sama, *lobular carcinoma in situ* (LCIS), densitas tinggi pada mamografi), riwayat menstruasi dini (<12 tahun) atau menopause lambat (>55 tahun), riwayat

reproduksi (tidak memiliki anak dan tidak menyusui), hormonal, obesitas, konsumsi alkohol, riwayat radiasi dinding dada, dan faktor lingkungan.⁴

Pemberian pajanan DMBA pada tikus dilaporkan dapat menimbulkan kanker payudara.⁵ Metabolit yang dihasilkan dari DMBA menginduksi kerusakan DNA melalui penambahan residu adenin dan guanin pada DNA, sehingga apoptosis menjadi terhambat dan menyebabkan terjadinya keganasan pada jaringan payudara. DMBA akan bereaksi dengan sitokrom P-450 dan membentuk ikatan kovalen dengan DNA sel yang aktif sehingga menghasilkan metabolit aktif berupa DNA *adducts* yang dapat menyebabkan terjadinya mutasi gen.^{5,6}

Bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) adalah salah satu tumbuhan yang dilaporkan mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antikanker.⁷ Bawang dayak merupakan salah satu tumbuhan khas Kalimantan yang banyak terdapat di lingkungan tempat tinggal masyarakat suku Dayak dan berkhasiat sebagai obat tradisional.⁸ Tumbuhan ini oleh masyarakat Dayak secara turun-temurun telah digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai jenis penyakit seperti hipertensi, diabetes melitus, kolesterol, jantung, kanker payudara, kanker kolon, dan stroke.^{9,10} Suku Dayak menggunakan bawang dayak sebagai obat kanker dengan mengeringkan umbi terlebih dahulu untuk kemudian dikunyah. Umbi bawang dayak juga digunakan oleh suku Dayak untuk mengobati penyakit kulit maupun luka dengan memarut umbi bawang dayak dan menempelkan parutan pada kulit atau dengan meminum air rebusannya.^{8,11} Senyawa bawang dayak berdasarkan

peranannya dalam bidang farmakologis terbagi menjadi tiga kelompok secara garis besar. Kelompok senyawa tersebut diantaranya adalah naftalena, naftokuinon dan antrakuinon.¹² Senyawa metabolit sekunder golongan naftokuinon (elecanacine, eleutherine, eleutherol, eleutherinon) yang terdapat pada bawang dayak diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antikanker.^{10,12} Penelitian telah dilakukan mengenai uji penghambatan siklus sel dan peningkatan apoptosis sel bawang dayak terhadap sel kanker payudara T47D dan aktivitas antikanker bawang dayak terhadap sel kanker kolon WiDr serta sel kanker serviks (HeLa). Efek sitotoksik *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. pada berbagai sel kanker diperkirakan disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, naftokuinon, antrakuinon, dan triterpenoid.^{10,13}

Berdasarkan uraian di atas, bahwa diperlukan penelitian lebih lanjut secara ilmiah yang mengkaji pemanfaatan dari bawang dayak, peneliti berupaya melakukan penelitian efek pemberian ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap gambaran histopatologi tumor payudara pada tikus putih (*Rattus novergicus*) galur *Sprague Dawley*. Uji ini diharapkan dapat memberikan alternatif baru dalam pengobatan kanker payudara yang murah, mudah didapat dan memiliki efek samping yang rendah.

METODE

Penelitian ini adalah eksperimental menggunakan metode rancangan acak terkontrol dengan *post test-only control group design* yang dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak etanol umbi bawang dayak terhadap gambaran

histopatologi tumor payudara tikus. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) betina galur *Sprague Dawley* umur 5 minggu dengan berat badan 80-150 gram. Tikus betina galur *Sprague Dawley* sebanyak 30 ekor, dibagi menjadi enam kelompok secara acak. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Pengelompokan hewan percobaan pada setiap kelompok, yaitu kelompok normal tikus sehat hanya diberi pakan dan minum secara *ad libitum*, kelompok kontrol negatif diberikan DMBA 20 mg/kgBB dan DMSO 5%, kelompok kontrol positif diberikan DMBA 20 mg/kgBB dan tamoxifen 2 mg/kgBB, kelompok perlakuan I diberikan DMBA 20 mg/kgBB dan ekstrak etanol umbi bawang dayak 180 mg/kgBB, kelompok perlakuan II diberikan DMBA 20 mg/kgBB dan ekstrak etanol umbi bawang dayak 360 mg/kgBB, serta kelompok perlakuan III diberikan DMBA 20 mg/kgBB dan ekstrak etanol umbi bawang dayak 720 mg/kgBB.

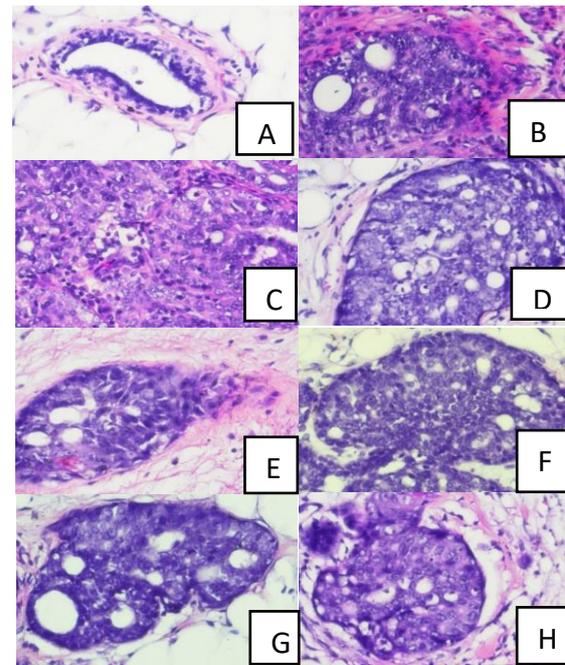
Pembuatan model tumor payudara pada tikus uji dilakukan menggunakan DMBA yang dilarutkan dalam minyak jagung. Induksi dilakukan secara intragastric sebanyak 20 mg/kgBB. Proses induksi diberikan mulai dari minggu pertama penelitian yang dilakukan secara kontinu sebanyak 10 kali yaitu dua kali seminggu selama 5 minggu yang dilakukan mulai minggu pertama penelitian. Ekstrak etanol umbi bawang dayak diencerkan dalam DMSO 5% diberikan peroral dengan sonde setiap hari sekali dimulai pada hari pertama penelitian selama 70 hari pada kelompok perlakuan I, II dan III. Apabila diberikan bersama DMBA, ekstrak etanol diberikan minimal setelah satu jam pemberian DMBA. Setelah itu semua tikus dieutanasia menggunakan eter dan dislokasi servikal.

Sediaan histopatologi tumor payudara dengan pulasan Hematoksin-Eosin diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran lensa objektif 4x, 10x, 20x, dan 40x untuk menilai gambaran histopatologinya. Gambaran histopatologi tumor payudara diamati dalam seluruh lapang pandang yang dibagi dalam 5 kategori. Derajat histologi payudara diperoleh dengan ketentuan sebagai berikut: 1= Normal, 2= Hiperplasia tanpa atypia, 3= Hiperplasia dengan atypia, 4= Karsinoma in situ, 5= Karsinoma invasif. Perbedaan hasil pengamatan diantara kelompok dinilai dengan uji statistik *Kruskal Wallis Test* yang kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* menggunakan perangkat lunak SPSS for windows versi 23.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada akhir penelitian (minggu ke-11), dilakukan nekropsi terhadap hewan uji. Nodul pada tikus yang terlihat setelah pemberian DMBA tidak hanya timbul di bagian puting, tetapi ada juga yang timbul di sepanjang percabangan *milk line* bagian *cervical*, *thoracic*, dan *abdomino-inguinal*. Pada kelenjar payudara tikus normal hanya ditemukan satu lapis sel epitel kuboid. Kelompok kontrol negatif menunjukkan 3 tikus (75%) dengan gambaran karsinoma in situ dan 1 tikus (25%) dengan gambaran karsinoma invasif. Kelompok kontrol positif menunjukkan 2 tikus (50%) dengan gambaran histologi payudara normal dan 2 tikus lainnya (50%) dengan gambaran hiperplasia tanpa atypia. Kelompok perlakuan I (180 mg/kgBB) menunjukkan 1 tikus (25%) dengan gambaran histologi payudara normal dan 3 tikus (75%) dengan gambaran hiperplasia dengan atypia. Kelompok perlakuan II (360 mg/kgBB) menunjukkan 4 tikus (100%) dengan

gambaran hiperplasia dengan atypia. Kelompok perlakuan III (720 mg/kgBB) menunjukkan 1 tikus (25%) dengan gambaran histologi payudara normal dan 3 tikus (75%) dengan gambaran hiperplasia dengan atypia. Gambaran histologi setiap kelompok dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histologi payudara setiap kelompok penelitian. (A) Jaringan kelenjar payudara tikus kelompok normal terlihat duktus normal dengan sel epitel kuboid. (B) dan (C) Kelompok kontrol negatif, menunjukkan karsinoma invasif dengan destruksi dan penetrasi progresif jaringan sekitarnya. (D) Kelompok kontrol negatif, menunjukkan karsinoma in situ. (E) Kelompok kontrol positif, menunjukkan hiperplasia epitel tanpa atypia. (F) Kelompok Perlakuan 1, menunjukkan hiperplasia dengan atypia. (G) Kelompok Perlakuan 2, menunjukkan hiperplasia dengan atypia. (H), Kelompok Perlakuan 3, menunjukkan hiperplasia dengan atypia. (Pewarnaan HE, 40x).

Selanjutnya dilakukan uji statistik *Kruskal Wallis* (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Statistik *Kruskal-Wallis*

Kelompok	Gambaran histopatologi				Uji statistik	
	Normal	Hiperplasia tanpa atypia	Hiperplasia dengan atypia	Karsinoma in situ		Karsinoma invasif
K-	0	0	0	3 (75%)	1 (25%)	$p = 0,006^*$
K+	2 (50%)	2 (50%)	0	0	0	
P I	1 (25%)	0	3 (75%)	0	0	
P II	0	0	4 (100%)	0	0	
P III	1 (25%)	0	3 (75%)	0	0	

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Berdasarkan hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai $p = 0,006$ (Signifikan $p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kelompok. Perbedaan antar kelompok selanjutnya didapatkan dengan melakukan uji *Mann-Whitney* (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Uji Statistik *Mann-Whitney*

Kelompok	K+	P I	P II	P III
K-	0,017*	0,015*	0,011*	0,015*
K+	-	0,127	0,013*	0,127
P I	-	-	0,317	1,000
P II	-	-	-	0,317

Keterangan :

* Signifikan $p < 0,05$

Berdasarkan uji *Mann-Whitney* didapatkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan I, II, dan III terhadap kelompok kontrol negatif (K-), serta didapatkan perbedaan signifikan pada kelompok perlakuan II terhadap kelompok kontrol positif (K+).

Tikus betina galur *Sprague-Dawley* adalah tikus uji yang paling sensitif terhadap DMBA dengan puncak kerentanan terutama pada usia 45-55 hari yang merupakan masa awal pubertas.¹⁴

Inisiasi karsinogenik terjadi terutama pada *terminal end buds* (TEB) yang banyak terdapat pada usia pubertas, struktur TEB ini diketahui sama dengan struktur *terminal*

ductal lobular unit (TDLU) pada payudara manusia. Kerentanan TEB yang tinggi terhadap transformasi neoplasia disebabkan oleh adanya sel punca, tingginya tingkat proliferasi serta aktivitas sintesis DNA yang maksimal dibandingkan dengan *alveolar bud* (AB) dan lobulus yang lebih terdiferensiasi. Sel TEB diketahui memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan DNA yang lebih rendah dibandingkan sel lobulus. Hal ini disebabkan oleh fase G0 yang lebih singkat pada sel TEB.¹⁵

Tikus *Sprague-Dawley* yang digunakan pada penelitian ini beberapa mengalami kematian sebelum waktu pengamatan berakhir. Tikus yang mengalami kematian sebanyak 4 tikus, yaitu pada kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan I, kelompok perlakuan II, dan kelompok perlakuan III, masing-masing kelompok sebanyak 1 tikus. Kematian pada hewan uji tidak diketahui secara pasti penyebabnya, dikarenakan tidak dilakukan pemeriksaan lebih lanjut terkait penyebab kematian hewan uji.

Tipe histologi tumor payudara tikus pada penelitian ini menunjukkan gambaran payudara normal, hiperplasia tanpa atypia, hiperplasia dengan atypia, karsinoma in situ, hingga karsinoma invasif. Kriteria sitologi dalam evaluasi derajat karsinoma in situ adalah derajat inti sel neoplastik, yang

ditentukan oleh pleomorfisme, indeks mitosis, pola kromatin, dan ukuran serta jumlah nukleolus. Indeks mitosis yang tinggi, nukleus pleomorfik, hiperkromatosis, dan nukleolus yang prominent adalah karakteristik yang mengidentifikasi lesi yang berdiferensiasi buruk. Karsinoma in situ tidak menginfiltrasi membran basal (membran basal masih utuh). Karsinoma invasif ditandai dengan infiltrasi, invasi, destruksi dan penetrasi ke jaringan sekitarnya.^{16,17}

Senyawa DMBA merupakan karsinogen yang spesifik untuk pembuatan model tumor payudara pada hewan uji jika diberikan secara peroral.¹⁸ Karsinogen ini termasuk golongan hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) dan merupakan promutagen, prokarsinogen serta teratogen yang melakukan aksinya dengan merusak molekul DNA dalam bentuk metabolitnya.^{6,19} DMBA di dalam tubuh hewan pengerat akan bereaksi dengan sitokrom P-450 dan akan membentuk ikatan kovalen dengan DNA sel yang aktif sehingga menghasilkan metabolit aktif berupa DNA adducts yang dapat menyebabkan terjadinya mutasi.^{20,21}

Hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) adalah kontaminan lingkungan yang tersebar luas serta berinteraksi secara kompleks dengan *aryl hydrocarbon receptor* (AhR) dan reseptor estrogen (ER).²² Induksi DMBA akan menghasilkan ikatan antara DMBA dengan AhR (*Aryl Hydrocarbon Receptor*) yang berfungsi sebagai reseptor DMBA di sitosol. Ikatan DMBA dengan AhR akan menuju ke nukleus dan berikatan dengan ARNT (*Aryl Hydrocarbon Nuclear Translocator*).²³ Ikatan DMBA, AhR, dan ARNT tersebut akan mengaktifasi enzim oksidasi sitokrom P-450. Enzim sitokrom P-450 yang aktif akan mengoksidasi DMBA menjadi bentuk 3,4-epoxides, kemudian terjadi hidrolisis

epoxides oleh *microsomal epoxide hydrolase* (MEH) yang menghasilkan metabolit *proximate carcinogenic* dan DMBA-3,4-diol. Metabolit ini akan dioksidasi oleh fase pertama enzim sitokrom P-450 yaitu CYP1A1 atau CYP1B1 menjadi metabolit *ultimate carcinogenic* (DMBA-3,4-diol-1,2-epoxide). Senyawa *ultimate carcinogen* dapat membentuk ikatan kovalen dengan DNA sel yang aktif sehingga menghasilkan metabolit aktif berupa DNA adducts. Senyawa DMBA juga dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga meningkatkan ekspresi NF- κ B yang pada akhirnya dapat menyebabkan terjadinya mutasi.^{14,19}

Aryl hydrocarbon receptor (AhR) adalah faktor transkripsi yang diaktifkan ligan. Ligan AhR yang paling umum dikenal adalah hidrokarbon polisiklik. Ligan hidrofobik AhR memasuki sel melalui difusi sederhana dan mengikat reseptor yang terkait dengan *heat-shock protein90* (Hsp90). Ikatan ligan ke reseptor memicu perubahan konformasi pada AhR menjadi bentuk yang menunjukkan afinitas yang lebih kuat terhadap DNA. *Aryl hydrocarbon receptor* di dalam nukleus berinteraksi dengan ARNT membentuk heterodimer dan mengikat urutan DNA tertentu yang disebut *xenobiotic response elements* (XREs). Pengikatan ini mengarah pada aktivasi transkripsi dari gen yang memiliki XRE ini dalam urutan promotornya. Beberapa gen yang diaktivasi oleh AhR menyandikan enzim metabolik fase I dan II seperti sitokrom P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, dan CYP1B1.²³

Berdasarkan hasil pengamatan, kelompok kontrol positif (tamoxifen) menunjukkan 2 tikus (50%) dengan gambaran histologi payudara normal dan 2 tikus lainnya (50%) dengan gambaran hiperplasia tanpa atypia. Tumor payudara yang tidak tumbuh menunjukkan

ketidakberhasilan insidensi tumor yang dapat disebabkan oleh pengaruh dari tamoxifen, sehingga pertumbuhan tumor tidak terjadi pada keseluruhan hewan uji. Pada penelitian ini, tamoxifen digunakan dalam kelompok kontrol positif. Penggunaan tamoxifen efektif terhadap tumor yang mengekspresikan reseptor hormon *estrogen receptor +/progesterone receptor +* (ER+/PR+). Berdasarkan penelitian terhadap tumor payudara 16 ekor tikus *Sprague-Dawley* yang diinduksi DMBA, didapatkan bahwa semua tumor merupakan ER+/PR+ dengan tingkat ekspresi ER α lebih tinggi dibandingkan ekspresi PR, sehingga pemberian tamoxifen pada tikus yang diinduksi DMBA dapat memberikan efek terapi.²⁴ Pada jaringan payudara, tamoxifen bekerja dengan mengikat reseptor estrogen sehingga menyebabkan efek antiestrogenik dan antitumor.²⁵

Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa dalam sel kanker payudara, ligan AhR memiliki kapasitas untuk berikatan dengan reseptor estrogen dan berpotensi mengganggu pensinyalan reseptor estrogen. Estrogen juga dapat dimetabolisme oleh gen yang dimodulasi oleh AhR seperti CYP1B1 untuk menghasilkan metabolit beracun yang dalam beberapa kasus bertindak sebagai genotoksin.²³ Aktivasi AhR secara transkripsi mengatur enzim sitokrom P450 (CYP) dan juga dapat bertindak langsung dalam mengatur pertumbuhan sel, apoptosis, dan transisi ke fenotipe metastasis invasif. Aktivasi AhR dan sistem CYP merupakan pusat dari karsinogenesis kimiawi yang disebabkan oleh polisiklik aromatik hidrokarbon, suatu proses yang mungkin rentan terhadap regulasi oleh androgen.²⁶ Hidrokarbon aromatik polisiklik memiliki beberapa efek terbatas pada pensinyalan proliferasi ER,

metabolisme PAH yang bergantung pada AhR melalui enzim CYP1 (yang mengarah ke produksi metabolit PAH aktif seperti estrogen) berkontribusi secara signifikan terhadap efek estrogen pada proliferasi sel. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa PAH dapat mengaktifasi ER α secara langsung dan berkontribusi terhadap efek proliferasinya.²² Senyawa DMBA menimbulkan perubahan histologis pada kelenjar payudara dengan peningkatan selanjutnya dalam ER α , PR, EGFR, *insulin-like growth factor type 1 receptor* (IGF1R), Ki-67, *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA), sitokin, dan ekspresi kemokin.²⁷

Berdasarkan hasil uji statistik gambaran histologi payudara tikus didapatkan perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan ekstrak etanol umbi bawang dayak dosis 180 mg/kgBB, 360 mg/kgBB, dan 720 mg/kgBB terhadap kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi bawang dayak mempunyai efek terhadap gambaran histologi, dimana gambaran histologi yang ditemukan antara lain normal dan hiperplasia dengan atypia, sedangkan pada kelompok kontrol negatif dengan gambaran karsinoma invasif dan karsinoma in situ. Insidensi pertumbuhan tumor payudara yang tidak mencapai 100% pada kelompok perlakuan ekstrak dapat disebabkan oleh adanya pengaruh dari ekstrak etanol umbi bawang dayak yang diberikan, selain itu, kemungkinan dapat juga disebabkan oleh faktor lain seperti dosis dan frekuensi pemberian DMBA, tingkat kerentanan antara tikus *Sprague-Dawley* yang berbeda, serta waktu observasi yang dilakukan selama 5 minggu.

Naftokuinon (elecanacin, eleutherine, eletherol, eleutherinon) yang terdapat pada umbi bawang dayak diketahui mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel leukemia RAW 264.7 dengan

menghambat produksi *nitric oxide induction enzyme* (iNOS) sehingga dapat memicu terjadinya apoptosis melalui penurunan NF- κ B. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa beberapa senyawa naftokuinon yaitu eleutherine, isoeleutherine, dan eleutherol mempunyai efek anti-proliferasi terhadap sel kanker glioma (U251) dan kanker payudara (MCF-7).²⁸ Kandungan triterpenoid mempunyai aktivitas antikanker yaitu dengan menghambat ekspresi protein yang terlibat dalam angiogenesis, menghambat metastasis sel kanker, serta menginduksi apoptosis melalui penghambatan ekspresi NF- κ B. Senyawa antrakuinon diketahui memiliki aktivitas sitotoksik melalui mekanisme aktivasi protein p53 yang dapat meningkatkan ekspresi Bax dan menekan ekspresi Bcl-2 yang akan menginduksi apoptosis.¹³

Flavonoid bekerja dengan cara menghambat proliferasi melalui penghambatan pembentukan ROS serta menekan *xanthine oksidase*, COX-2, dan 5-LOX, yang merupakan katalis utama dalam perkembangan tumor. Flavonoid juga dilaporkan dapat memicu penghentian siklus sel, induksi apoptosis, dan penghambatan angiogenesis.^{11,13} Penelitian telah membuktikan bahwa beberapa senyawa flavonoid mempunyai potensi inhibitor terhadap sitokrom P-450. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, beberapa senyawa flavonoid diketahui dapat menghambat isoenzim CYP1A dan CYP3A4. Keluarga CYP1A terdiri dari isoenzim CYP1A1 dan CYP1A2.^{29,30} CYP1A1 merupakan enzim yang memetabolisme senyawa-senyawa PAH, dimana salah satunya adalah DMBA.

Ekstrak bawang dayak dilaporkan menghambat siklus sel pada fase G0-G1.¹⁰ Kandungan flavonoid dan naftokuinon diketahui berperan terhadap

penghambatan siklus sel.^{28,31} Mekanisme ini terjadi karena adanya penurunan ekspresi siklin D, sehingga *Cyclin Dependent Kinase 4/6* (CDK4 dan CDK6) menjadi tidak aktif dikarenakan tidak adanya ikatan dengan siklin D. Tumor payudara yang diinduksi DMBA dilaporkan menunjukkan peningkatan ekspresi cyclin D1 dan protein retinoblastoma (Rb) yang hiperfosforilasi.³² Kompleks CDK-siklin diperlukan untuk mengarahkan jalannya siklus sel melalui fosforilasi protein yang mengatur peralihan siklus sel, seperti protein retinoblastoma (Rb). Ekstrak bawang dayak menurunkan ekspresi siklin D, sehingga tidak terbentuk kompleks CDK-siklin yang menyebabkan protein Rb tidak mengalami fosforilasi. Hal ini menyebabkan siklus sel berhenti pada fase G0-G1 yang memberikan kesempatan dalam proses perbaikan DNA atau sel dapat memasuki proses apoptosis.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa tipe gambaran histopatologi sel tumor payudara pada kelompok perlakuan dosis ekstrak etanol umbi bawang dayak 180mg/kgBB/hari, 360mg/kgBB/hari, dan 720 mg/kgBB/hari menunjukkan gambaran histologi payudara normal dan gambaran hiperplasia dengan atypia. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan I, perlakuan II dan perlakuan III terhadap kelompok kontrol negatif, serta didapatkan bahwa kelompok perlakuan I dan perlakuan III tidak berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif (tamoxifen), namun terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok perlakuan II terhadap kelompok kontrol positif. Ekstrak etanol umbi bawang dayak dosis 180 mg/kgBB, 360 mg/kgBB, dan 720

mg/kgBB mempunyai efek terhadap penghambatan gambaran histopatologi sel tumor payudara.

DUKUNGAN FINANSIAL

Tidak ada.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Oktober bulan peduli kanker payudara. Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI; 2016.
2. World Health Organization. Latest global cancer data: Cancer burden rises to 18.1 million new cases and 9.6 million cancer deaths in 2018. 2018;3.
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Stop kanker. Infodatin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.; 2015.
4. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Panduan penatalaksanaan kanker payudara. Komite Nasional Penanggulangan Kanker Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2015.
5. Kwon YJ, Ye DJ, Baek HS, Chun YJ. 7,12-Dimethylbenz[α]anthracene increases cell proliferation and invasion through induction of Wnt/ β -catenin signaling and EMT process. *Environmental Toxicology*. 2018;33(7):729–42.
6. Nassan MA, Soliman MM, Ismail SA, El-Shazly S. Effect of *Taraxacum officinale* extract on PI3K/Akt pathway in DMBA-induced breast cancer in albino rats. *Bioscience Reports*. 2018;38(6):1–20.
7. Couto C, Moraes D, Cartágenes M, Amaral F, Guerra R. *Eleutherine bulbous* (Mill.) Urb.: a review study. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2016;10(21):286–97.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada.

8. Novaryatiin S, Pratiwi AM, Ardhany SD. Uji daya hambat ekstrak etanol bawang dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Anterior Jurnal*. 2018;18(1):92–7.
9. Paramita S, Yasir Y, Yuniati Y, Sina I. Analisis bioautografi kromatografi lapis tipis dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol bawang tiwai (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) terhadap Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2018;1(9):470–8.
10. Fitri Y, Suwarso E. Effects of inhibition cell cycle and apoptosis of sabrang onion extract (*Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb.) on breast cancer cells. *IntJ PharmTech Res*. 2014;6(4):1392–6.
11. Naspiah N, Iskandar Y. Review article: tiwai onion (*Eleutherine americana* Merr.), multifunction plant. *IJAS*. 2014;4(1):18–30.
12. Sulastrri E, Oktaviani C, Yusriadi. Formulasi mikroemulsi ekstrak bawang hutan dan uji aktivitas antioksidan. *Jurnal Pharmascience*. 2015;2(2):1–14.
13. Lubis IA, Ichwan MF, Mustofa, Satria D. Anticancer activity of *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. extract on WiDr cell line in vitro. In: *Proceedings of the 2nd Public Health International Conference (PHICo 2017)* [Internet]. Medan, Indonesia: Atlantis Press; 2018 [cited 2020 Jan 19]. Available from: <http://www.atlantis->

- press.com/php/paper-details.php?id=25897446
14. Kerdelhué B, Forest C, Coumoul X. Dimethyl-Benz(a)anthracene: A mammary carcinogen and a neuroendocrine disruptor. *Biochimie Open*. 2016;3:49–55.
 15. Russo J. Significance of rat mammary tumors for human risk assessment. *Toxicologic Pathology*. 2015;43(2):145–70.
 16. Kumar V, Abbas A, Aster J. *Buku ajar patologi robbins*. Edisi 9. Singapura: Elsevier Saunders; 2015. p. 696-699.
 18. Susilowati S. Efek kemopreventif ekstrak metanol kulit kayu nangka (*Artocarpus heterophylla* Lmk.) pada karsinogenesis kanker payudara tikus betina yang diinduksi DMBA. *Jurnal Farmasi (Journal of Pharmacy)*. 2019;1(1):19.
 19. Bazm MA, Naseri L, Khazaei M. Methods of inducing breast cancer in animal models: a systematic review. *World Cancer Research Journal*. 2018;5(4):17.
 20. Wongso H. Induksi kanker pada tikus putih Sprague-Dawley sebagai hewan model dalam penelitian radiofarmaka. *Prosiding Seminar Nasional Sains dan Teknologi Nuklir*. 2013 Jul;319–26.
 21. Fitricia I. Pengaruh pemberian tomat (*Solanum lycopersicum* L.) terhadap perubahan histologi kelenjar mammae mencit betina yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz(α)antrasena (DMBA) [skripsi]. [Surabaya]: Universitas Airlangga; 2012.
 22. Hýžd'alová M, Pivnička J, Zapletal O, Vázquez-Gómez G, Matthews J, Neča J, et al. Aryl hydrocarbon receptor-dependent metabolism plays a significant role in estrogen-like effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on cell proliferation. *Toxicological Sciences*. 2018;165(2):447–61.
 23. Callero MA, Loaiza-Pérez AI. The role of aryl hydrocarbon receptor and crosstalk with estrogen receptor in response of breast cancer cells to the novel antitumor agents benzothiazoles and aminoflavone. *International Journal of Breast Cancer*. 2011;2011:1–9.
 24. Alvarado A, Lopes AC, Faustino-Rocha AI, Cabrita AMS, Ferreira R, Oliveira PA, et al. Prognostic factors in MNU and DMBA-induced mammary tumors in female rats. *Pathology - Research and Practice*. 2017;213(5):441–6.
 25. Farrar M, Jacobs T. Tamoxifen. In *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-; 2020. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532905/>
 26. Choi J, Psarommatis B, Gao YR, Zheng Y, Handelsman DJ, Simanainen U. The role of androgens in experimental rodent mammary carcinogenesis. *Breast Cancer Research [Internet]*. 2014 Dec [cited 2020 Oct 28];16(6). Available from: <http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-014-0483-x>
 27. Kumar A, Sunita P, Jha S, Pattanayak SP. 7,8-Dihydroxycoumarin exerts antitumor potential on DMBA-induced mammary carcinogenesis by inhibiting ER α , PR, EGFR, and IGF1R: involvement of MAPK1/2-JNK1/2-Akt pathway. *Journal of Physiology and Biochemistry*. 2018;74(2):223–34.
 28. Campos A, Vendramini-Costa DB, Fiorito GF, Ruiz ALTG, Carvalho J, Souza GMR de, et al. Antiproliferative effect of extracts and pyranonaphthoquinones obtained from *Cipura paludosa* bulbs.

