

POTENSI KOMBINASI KURKUMIN DAN VITAMIN E TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-1 (IL-1) DAN CYCLOOXYGENASE-2 (COX-2) PADA OVARIUM TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL KANKER MAMMAE

Dyah Ayu Oktavianie Ardhiana Pratama^{1*}, Herawati¹, Aulia Firmawati¹, Putri Dewi¹, Anna Roosdiana²

¹Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya

email: dyah.oktavianie@gmail.com

²Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya

Abstrak

Kanker mammae merupakan jenis neoplasma ganas yang menyerang jaringan mammae, yang dapat dipicu oleh agen karsinogenik DMBA (dimethyl benz (α) anthracene). Kanker mammae akibat induksi DMBA mempunyai kemungkinan untuk menyebar ke organ lain seperti ovarium. Peningkatan jumlah ROS secara sistemik dapat menimbulkan kondisi stress oksidatif pada ovarium, hal ini memicu makrofag untuk mengaktifasi sitokin proinflamatori, yaitu IL-1 dan COX-2 untuk menimbulkan reaksi inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi kombinasi kurkumin dengan vitamin E dalam menurunkan ekspresi IL-1 dan COX-2 pada ovarium tikus model kanker mammae yang diinduksi oleh DMBA. Pembuatan hewan model kanker mammae dilakukan dengan induksi DMBA dosis 10 mg/kg BB dan estrogen dosis 20.000 IU/kg BB. Penelitian ini dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif (KN), kontrol positif (KP), perlakuan satu (P1) terapi dengan kurkumin 48mg/kg BB dan vitamin E 300 IU/ekor, perlakuan dua (P2) dosis 72mg/kg BB dan 200 IU/ekor, dan perlakuan tiga (P3) dosis 108mg/kg BB dan 100 IU/ekor. Ekspresi IL-1 dan COX-2 diamati dengan Imunohistokimia. Analisis data dilakukan dengan uji ANOVA, karena terdapat perbedaan nyata hasil antar perlakuan, maka dilakukan uji Tukey ($\alpha < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E pada tikus kanker mammae mampu menurunkan ekspresi IL-1 sebesar 60% dan COX-2 sebesar 43% secara signifikan dengan dosis efektif kurkumin 108 mg/kg BB dan vitamin E 100 IU/ekor.

Kata kunci : Kanker Mammae, Ovarium, DMBA, IL-1, COX-2, Kurkumin, Vitamin E

1. Pendahuluan

Latar Belakang

Pada studi kasus yang telah banyak dilakukan, diketahui bahwa kanker mammae yang terjadi pada manusia juga dapat terjadi pada hewan. Kasus kejadian kanker mammae pada hewan juga berbeda-beda di tiap negara. Kasus kanker telah banyak menyerang pada hewan peliharaan seperti kucing, anjing, dan kuda. Namun kebanyakan kasus ini lebih sering terjadi pada anjing betina. Angka kejadian kanker mammae

pada anjing betina dapat mencapai 47% dibandingkan dengan kasus tumor yang lain (Abbas *et al.*, 2013).

Sel-sel kanker dapat terjadi dikarenakan banyak faktor. Salah satu diantaranya adalah mutasi genetik. Mutasi gen penyebab kanker disebabkan oleh paparan radiasi UV dan bahan kimia lainnya, atau bisa juga disebabkan adanya paparan 7,12 dimetyl benz (α) anthracene (DMBA). DMBA ini diketahui bersifat mutagenik, teratogenik, karsinogenik, sitotoksik, dan immunosupratif. DMBA memiliki

potensi untuk memicu timbulnya kanker (Meiyanto *dkk*, 2007). Induksi DMBA secara injeksi dapat menjadi karsinogen poten pada hewan coba. DMBA mampu menginduksi produksi ROS yang menyebabkan peroksidasi lemak, kerusakan DNA, serta hilangnya sel yang memiliki sistem antioksidan.

Sitokin IL- 1 merupakan mediator penting dari respon inflamasi dan terlibat dalam berbagai kegiatan selular termasuk proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis. Prostaglandin salah satu mediator yang berperan terhadap proses inflamasi dan perkembangan kanker, disintesis dari asam arakidonat dengan katalisasi enzim Cyclooxygenase (COX). COX-2 merupakan enzim dalam bentuk inducibel, dan tidak terdeteksi pada semua jaringan normal, akan tetapi COX-2 terinduksi oleh berbagai macam inflamasi dan stimulus mitogenik (Baratawidjaja, 2010).

Kanker mammae dapat diketahui memiliki hubungan erat terhadap ovarium. Resiko timbulnya kanker ovarium merupakan akibat adanya kanker mammae yang dikaitkan dengan adanya mutasi dari BRCA1 dan BRCA2 (Kelly *et al.*, 2005). Pasien yang menderita kanker mammae berarti telah mengalami mutasi pada gen BRCA1 dan BRCA2 yang mana memiliki kemungkinan tinggi untuk mengalami kanker ovarium (Wooster and Weber, 2005).

Usaha-usaha pencegahan dan pengobatan kanker pada hewan sebaiknya menggunakan terapi herbal yaitu kurkumin (*Curcuma longa L*) yang dikombinasikan dengan vitamin E. Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang terdapat dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa L*) dengan aktivitas

biologi sebagai antioksidan, antiinflamasi, kemopreventif, dan kemoterapi. Vitamin E juga berperan sebagai antioksidan yang berfungsi menangkap radikal bebas. Sehingga dengan adanya sifat antioksidan dari vitamin E, sel dan komponen tubuh yang lain dapat terlindungi dari serangan radikal bebas dan dapat mencegah terjadinya kerusakan DNA yang menyebabkan mutasi (Parker *et al.*, 2001).

Penelitian ini guna mempelajari mengenai pengaruh terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi DMBA sebagai hewan model kanker mammae dengan melihat ekspresi sitokin IL-1 dan COX-2 sebagai parameter kanker mammae.

2. Materi Dan Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan

yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain: kandang tikus, timbangan analitik, mortar, erlenmeyer 1000 ml, gelas ukur 10 ml, sendok pengaduk, ependorf, vortex, aluminium foil, masker, tabung vacum tab, botol kaca, micro pipet ukuran 10 µl, microtip warna kuning, gunting, kertas label, botol minum tikus, sekam berupa gabah padi, spuit 3 ml, spuit 1 ml, scalpel, blade scalpel, pinset, pot penampung organ, plastik klip, rak ependorf, apron, cawan petri, glove latek, botol steril, dan mikroskop.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah hewan tikus (*Rattus norvegicus*) strain Sprague-Dawley betina umur 10-12 minggu dengan berat rata-rata 150-200 gram, pakan buras crumble, 7,12 dimethylbenz (α) antracene

(DMBA), larutan PFA 4%, alkohol 70%, estrogen, minyak biji bunga matahari, aquades, kapas, blok parafin, PBS, serbuk kurkumin, pelarut CMCNa 5%, alkohol 70%, NaCl Fisiologis, vitamin E, larutan H₂O₂ 3%, normal serum (*blocking*), antibodi IHK untuk IL-1 dan COX-2, antibodi sekunder anti rabbit berlabel biotin, streptavidin, DAB

Perlakuan Hewan Coba

Hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Sprague-Dawley betina, berumur 10 minggu dengan berat badan 150-200 gram yang didapat dari UPHP (Unit Pengembangan Hewan Percobaan) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini sudah mendapatkan persetujuan etik oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 189-KEP-UB.

Tatalaksana Induksi DMBA dan Estrogen

Pembuatan hewan coba kanker mammae dilakukan berdasarkan modifikasi dari Cordeiro dan Kaliwal (2011), yaitu induksi DMBA *Multiple Low Dose* (MLD) dengan dosis 10mg/kg BB yang diberikan melalui injeksi subkutan pada mammae tikus. Induksi DMBA diberikan setiap 2 hari sekali sebanyak 10x induksi. Induksi estrogen dengan dosis 20.000 IU/kg BB secara intramuskular (Naciff *et al.*, 2002) setiap 4 hari sekali sebanyak 5 kali induksi.

Pemberian Terapi Kombinasi Kurkumin (*Curcuma longa L*) dan Vitamin E

Pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E secara oral. Kombinasi kurkumin dan vitamin E yang diberikan adalah 48 mg/kg BB kurkumin dan 300 IU/ekor vitamin E, 72 mg/kg BB kurkumin dan 200 IU/ekor vitamin E, 108 mg/kg BB kurkumin dan 100 IU/ekor vitamin E yang diberikan sekali setiap hari selama 21 hari.

Pengamatan Ekspresi IL-1 dan COX-2

Pengamatan IL-1 dan COX-2 dilakukan dengan metode imunohistokimia. Langkah pertama preparat ovarium direndam ke dalam xilol 1, xilol 2, etanol absolut 1, etanol absolut 2, etanol 90%, etanol 80%, etanol 70%, etanol 30% dan aquades selama masing-masing 1 x 5 menit kemudian preparat dicuci dengan PBS pH 7,4 selama 3x5 menit. *Unmasking* dalam buffer sitrat pH 6 dan EDTA pH 8 selama 10-20 menit pada suhu 9°C lalu angkat slide dan cuci dengan aquades. Selanjutnya ditetesi 3% H₂O₂ selama 10 menit untuk menghentikan enzim peroksidase dalam jaringan.

Selanjutnya, diinkubasi dengan antibodi primer perbandingan 1:100 dalam susu skim 1% PBS-tween suhu 4°C selama 24 jam. Lalu cuci slide dengan PBS 3 kali. Selanjutnya, diinkubasi dengan antibodi sekunder perbandingan 1:300 goat anti-rabbit berlabel biotin selama 1 jam dengan suhu ruang. Preparat ditetesi dengan SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*) selama 45 menit dengan suhu ruang. Kemudian dicuci kembali dengan PBS pH 7,4 selama 5 menit 3 kali. Ditetesi dengan DAB (*Diamano Benzidine*) selama 30 menit dengan suhu ruang. Selanjutnya *counterstaining*

menggunakan Mayer Hematoxilen selama 10 menit lalu slide direndam dalam air kran selama 10 menit, dicuci dengan akuades dan dikeringkan kurang lebih satu malam. . *Mounting* slide dengan entelan lalu keringkan dalam suhu ruang dan ditutup dengan *cover glass*. Hasil diamati menggunakan mikroskop olympus perbesaran 400x sebanyak lima lapang pandang. Pengamatan preparat imunohistokimia dilakukan dengan cara menghitung presentase area yang kemudian di analisa menggunakan *software* imunorasio.

Analisa Data

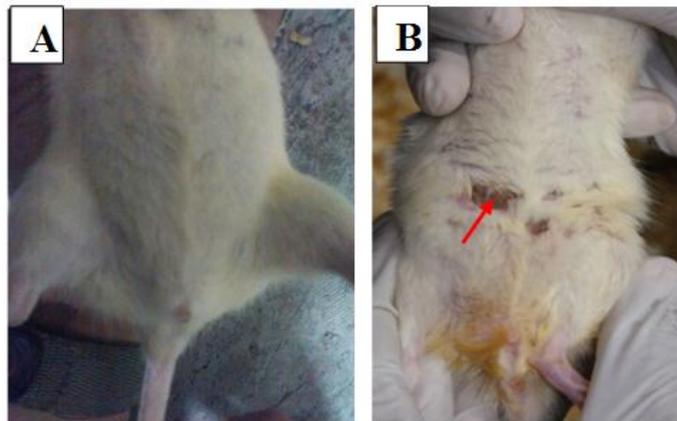
Analisa data terhadap ekspresi IL-1 dan COX-2 dilakukan secara

statistik kuantitatif dengan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan nyata antar perlakuan kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey Test* untuk membandingkan seluruh pasangan rata-rata perlakuan taraf kepercayaan 95% ($\alpha < 0,05$) (Kusriningrum, 2008).

3. Hasil Dan Pembahasan

Pemeriksaan Hewan Model Kanker Mammae

Hewan model kanker dibuat dengan induksi 7,12 *dimethylbenz (a) anthracene* (DMBA) dengan dosis 10 mg/kgBB yang diberikan sebanyak 10 kali dengan interval waktu 48 jam secara *subcutan* dan induksi estrogen dengan dosis 20.000 IU/Kg BB yang diberikan sebanyak 5 kali dengan interval waktu 96 jam secara *intramuscular*.



Gambar 1 Gambar A: Tikus kelompok kontrol pada hari ke-14; Gambar B: Tikus kelompok perlakuan hari ke-14 telah terbentuk nodul (tanda panah merah)

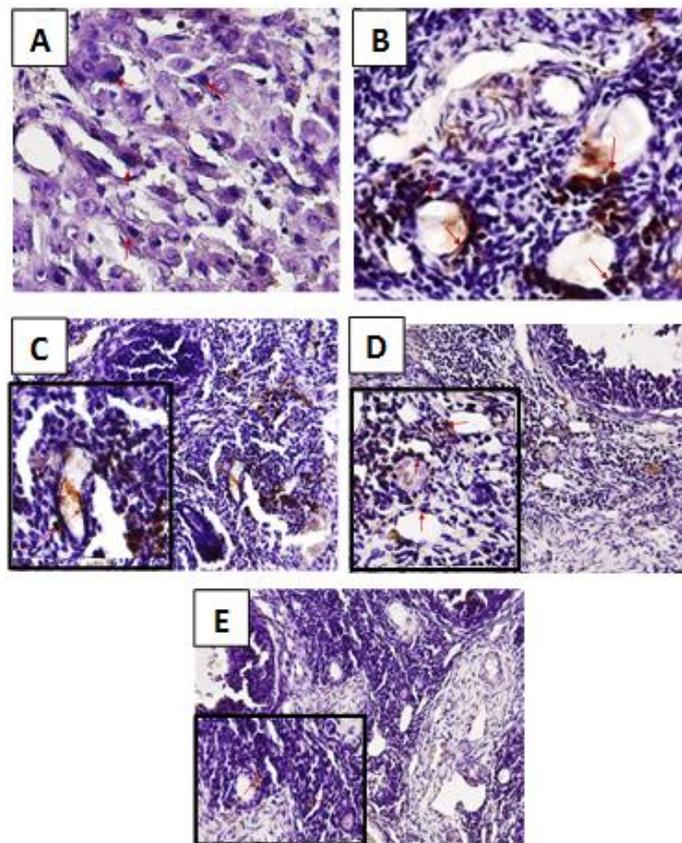
Menurut McCarthy *et al* (2003), kanker pada kelenjar mammae dapat didiagnosis melalui adanya benjolan pada daerah sekitar mammae yang ditandai adanya massa padat, keras dan tidak bergerak. Pada penelitian ini, diketahui terdapat bentukan massa padat

atau nodul semakin membesar dan mengeras pada hari ke-28 atau satu minggu setelah 10x induksi diberikan, yang menunjukkan massa kanker telah terbentuk pada mammae tikus. Nodul kanker terbentuk melalui perkembangan sel yang berlebih (proliferasi) sehingga

membentuk massa padat, dan bentuknya tidak beraturan.

Pemberian induksi DMBA secara subkutan menyebabkan paparan DMBA langsung menuju ke organ target yaitu mammae. Zat DMBA yang masuk ke dalam tubuh akan tereliminasi setelah 48 jam. Oleh sebab itu, dengan waktu induksi selama 2 hari sekali, diharapkan kadar DMBA dalam tubuh akan tetap stabil dan secara konstan terpapar pada jaringan sehingga inisiasi kanker dapat

berlangsung lebih cepat. Pemberian estradiol dalam penelitian ini juga bertujuan mempercepat terjadinya kanker mammae. Estradiol mampu meregulasi peningkatan ekspresi P450 melalui ikatannya dengan *estrogen receptor* (ER). Dengan demikian, pemberian estradiol mampu meregulasi sitokrom P450 yang kemudian berfungsi untuk memetabolisme DMBA menjadi zat metabolit aktif yang memicu terjadinya kanker.



Gambar 2 Ekspresi IL-1 pada ovarium tikus dengan perbesaran 400x. Keterangan (A): Kontrol Negatif (KN); (B): kelompok kontrol positif (KP); (C): kelompok perlakuan dosis 1 (P1); (D) kelompok perlakuan dosis 2 (P2); (E): kelompok perlakuan dosis 3 (P3). Tanda panah merah: warna coklat ekspresi IL-1.

Terlihatnya nodul sebagai marker timbulnya kanker dapat digunakan sebagai pemeriksaan awal keberhasilan terjadinya kanker untuk

selanjutnya dilakukan pemeriksaan terhadap ekspresi IL-1 dan COX-2 dalam mengetahui pengaruh terjadinya

kanker mammae hasil induksi zat DMBA terhadap organ ovarium.

Pengaruh Terapi Kombinasi Kurkumin dan Vitamin E Terhadap Ekspresi Interleukin- 1 (IL-1) pada Ovarium Tikus (Rattus norvegicus) Model Kanker Mammae Hasil Induksi DMBA

Ekspresi IL-1 pada ovarium tikus kanker mammae dapat diamati melalui pewarnaan IHC adanya ekspresi warna coklat pada jaringan. Banyaknya ikatan

antara antigen dan antibodi menunjukkan ekspresi IL-1 melalui adanya warna coklat yang terlihat pada sel-sel epitel ovarium seperti pada Gambar 2.

Perhitungan jumlah ekspresi IL-1 diukur menggunakan software *Immunoratio* dari rata-rata persentase area yang diukur pada 5 lapang pandang. Persentase area ekspresi IL-1 pada ovarium tikus hewan model kanker mammae ditampilkan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rata-rata Presentase Area Ekspresi IL-1 pada Ovarium Tikus Hewan Model Kanker Mammae

Kelompok	Rata-rata Ekspresi IL-1 ± SD (%)	Peningkatan terhadap (K-)	Penurunan terhadap (K+)
Kontrol – (KN)	24,87 ± 2,18 ^{ab}	-	-
Kontrol + (KP)	55,29 ± 5,58 ^d	122,3 %	-
Terapi 1 (P1)	41,62 ± 3,55 ^c	-	24,72 %
Terapi 2 (P2)	30,06 ± 3,37 ^b	-	45,62 %
Terapi 3 (P3)	22,08 ± 1,62 ^a	-	60,00 %

Keterangan: Perbedaan notasi a, b, c, dan d menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan

(p<0.05) antar kelompok perlakuan.

Hasil rata-rata ekspresi IL-1 pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (KN) sebesar 24,87 ± 2,18 dapat digunakan sebagai nilai standar ekspresi IL-1 pada ovarium tikus dalam keadaan normal. Peran dari sitokin IL-1 pada kontrol negatif didalam tubuh yakni sebagai indikator terhadap respon inflamasi (Ghosh dan Sengupta,2004).

Hasil rata-rata ekspresi IL-1 pada kelompok kontrol positif (KP) menunjukkan peningkatan sebesar 122,3 % jika dibandingkan dengan kelompok KN. Peningkatan ekspresi IL-1 menunjukkan bahwa induksi DMBA yang diberikan berpengaruh terhadap

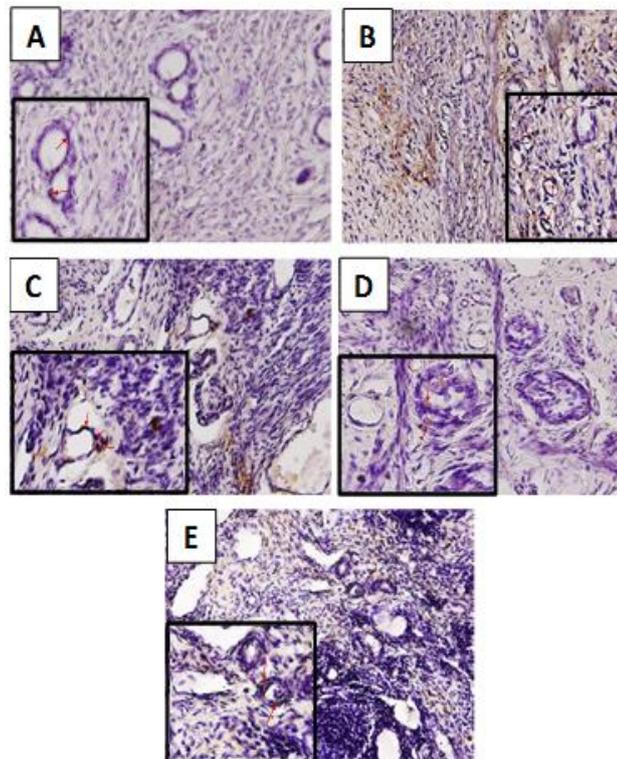
peningkatan ekspresi IL-1 pada ovarium tikus. DMBA merupakan zat metabolit aktif sehingga terbentuk DNA *adduct* yang dapat menimbulkan kerusakan DNA dan memicu terjadinya proliferasi yang terus menerus berkembang menjadi sel kanker.

Kelompok terapi 3 (P3) yang diberikan terapi kurkumin 108 mg/kg BB dan vitamin E 100 IU/ekor menunjukkan penurunan dibanding dengan KP yaitu sebesar 60,00%, Pada uji *Tukey* juga menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan KN yang mana hasil perhitungan rata-rata ekspresi IL-1 P3 paling mendekati dengan KN sehingga dapat dikatakan P3 merupakan

dosis terapi paling efektif.

Pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E mampu menurunkan ekspresi IL-1 pada organ ovarium. Mekanisme kurkumin sebagai antioksidan yaitu dengan memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal bebas sehingga radikal bebas tidak lagi bersifat reaktif dan lebih stabil (Trilaksani, 2003). Sifat antioksidan vitamin E merupakan pertahanan dalam melawan radikal bebas. Radikal bebas akan menyerang pertumbuhan sel

termasuk DNA yang nantinya dapat merusak struktur dan fungsi sel membrane. Keseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas ini akan membantu mengurangi pembentukan DNA *adduct* sehingga kerusakan DNA ikut berkurang. Sehingga jumlah ROS dapat turun atau berkurang dan kerja sitokin proinflamatori IL-1 yang dihasilkan oleh makrofag pun ikut berkurang.



Gambar 3. Ekspresi COX-2 pada ovarium tikus dengan perbesaran 400x. Keterangan (A):

Kontrol Negatif (KN); (B): kelompok kontrol positif (KP); (C): kelompok perlakuan dosis 1 (P1); (D) = kelompok perlakuan dosis 2 (P2); (E): kelompok perlakuan dosis 3 (P3). Tanda Panah Merah: warna coklat ekspresi COX-2.

Pengaruh Terapi Kombinasi Kurkumin dan Vitamin E Terhadap Ekspresi Cyclooxygenase-2 (COX-2) pada Ovarium Tikus (Rattus norvegicus) Model Kanker Mammae Hasil Induksi DMBA

Ekspresi COX-2 pada ovarium tikus kanker mammae dapat diamati melalui pewarnaan IHK dengan adanya ekspresi warna coklat pada jaringan. Banyaknya ikatan antara antigen dan antibodi menunjukkan ekspresi COX-2 melalui adanya warna coklat yang terlihat pada sel-sel epitel ovarium seperti pada **Gambar 3**.

Perhitungan jumlah ekspresi COX-2 diukur menggunakan software *Immunoratio* dari rata-rata persentase area yang diukur pada 5 lapang pandang. Persentase area ekspresi COX-2 pada ovarium tikus hewan model kanker mammae ditampilkan pada **Tabel 3**.

Hasil rata-rata ekspresi COX-2 pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif (KN) sebesar $22,29 \pm 1,76$ dapat digunakan sebagai nilai standar ekspresi COX-2 pada ovarium tikus dalam keadaan normal. Peran dari COX-2 pada kontrol negatif didalam tubuh yakni berperan sebagai sintesis estradiol dalam menghasilkan prostaglandin (Ghosh dan Sengupta, 2004).

Hasil rata-rata ekspresi COX-2 pada kelompok kontrol positif (KP) menunjukkan peningkatan sebesar 97,42 % jika dibandingkan dengan kelompok KN. Tingginya kadar ROS dalam ovarium menyebabkan banyaknya makrofag yang terkumpul di jaringan sehingga kadar asam arakidonat juga

tinggi. Asam arakidonat merupakan golongan asam lemak omega-6 bersifat tak jenuh dan termasuk jenis lemak esensial berperan dalam memproduksi prostaglandin dalam tubuh. PGE₂ dikatalisis oleh enzim aromatase menjadi E₂ (estradiol). Selanjutnya, estradiol dan VEGF menginduksi COX-2 untuk menghasilkan prostaglandin. Seiring dengan meningkatnya kadar PGE₂ dalam sirkulasi, angiogenesis ikut meningkat. Peningkatan angiogenesis memungkinkan terjadinya metastase sel-sel kanker ke organ lain termasuk ovarium.

Pemberian terapi kombinasi kurkumin dan vitamin E pada tikus yang telah diinduksi DMBA menunjukkan hasil yang beragam. Kelompok terapi 3 (P3) yang diberikan terapi kurkumin 108 mg/kg BB dan vitamin E 100 IU/ekor menunjukkan penurunan dibanding dengan KP yaitu sebesar 43,00%. Pada uji *Tukey* juga menunjukkan hasil tidak berbeda nyata dengan KN yang mana hasil perhitungan rata-rata ekspresi COX-2 P3 paling mendekati dengan KN sehingga dapat dikatakan P3 merupakan dosis terapi paling efektif.

Aktivitas antiinflamasi kurkumin dikaitkan dengan ekspresi berlebih (*overexpression*) dari enzim Cyclooxygenase tipe 2 (COX-2). Dengan adanya penghambatan terhadap enzim COX-2, maka produksi berlebih (*overexpression*) prostanoide dapat dicegah dan inflamasi berkurang serta proliferasi sel kanker juga ikut berkurang sehingga dapat mempercepat proses apoptosis (Nurrochmad, 2004). Antioksidan yang terkandung dalam kurkumin dan vitamin E dapat menangkap radikal bebas dan dapat

menghambat metabolit reaktif senyawa DMBA. Hal ini akan membantu mengurangi pembentukan DNA *adduct* dan kerusakan DNA ikut berkurang,

sehingga dapat menekan pelepasan mediator inflamasi COX-2 dan inflamasi menjadi berkurang

Tabel 3 Rata-rata Presentase Area Ekspresi COX-2 pada Ovarium Tikus Hewan Model Kanker Mammariae

Kelompok	Rata-rata Ekspresi COX-2 ± SD (%)	Peningkatan terhadap (K-)	Penurunan terhadap (K+)
Kontrol – (KN)	22,29 ± 1,76 ^a	-	-
Kontrol + (KP)	44,01 ± 5,12 ^c	97,42 %	-
Terapi 1 (P1)	34,65 ± 2,43 ^b	-	21,25 %
Terapi 2 (P2)	26,56 ± 2,87 ^a	-	39,60 %
Terapi 3 (P3)	24,80 ± 1,92 ^a	-	43,00 %

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

4. Kesimpulan

Terapi kurkumin dan vitamin E dapat menurunkan rata-rata ekspresi IL-1 dan COX-2 pada ovarium hingga tidak berbeda nyata dengan kontrol negatif (KN) pada dosis perlakuan tiga (P3) dengan dosis efektif kurkumin 108 mg/kg BB dan vitamin E 100 IU/ekor mampu menurunkan ekspresi IL-1 sebesar 60% dan ekspresi COX-2 sebesar 43%.

5. Saran

Perlu dilakukan penelitian terapi dengan dosis kurkumin dan vitamin E menggunakan skala dosis yang meningkat sehingga dapat dibandingkan dosis kombinasi terapi yang paling baik.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada staf Laboratorium Farmakologi FK UB, Laboratorium

Biokimia FMIPA UB dan Laboratorium Mikro FKH UB dan semua yang telah membantu dalam teknis penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Abbas, A.K., dan Lichtman, A.H. 2013. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 2nd Edition. Saunders. Philadelphia. 27,34-37,44,108,114-116.
- Baratawidjaja KN, Rengganis I. 2010. *Imunologi Dasar*. Edisi Ke-9. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta
- Cordeiro, M.C and Kaliwal, B.B. 2011. *Antioxidant Activity of Bark Extract of Bridelia Retusa Spreng on DMBA Induced Mammary Carcinogenesis in Female Sprague Dawley Rats*. Journal of Pharmacognosy. ISSN: 0976-884X & E-ISSN: 0976-8858, Vol. Dampa 2, Issue 1, 2011, pp-14-20.
- Ghosh D. and Sengupta J. 2004.

- Endocrine and paracrine correlates of endometrial receptivity to Blastocyst implantation in the human.* Indian J Physiol Pharmacol. 48 (1) : 6-30.
- Kelly A, Metcalfe, Henry.T, Lynch, Parvi Z.Ghadiriazq Nadine Tung, Ivoa, Olivotto, William D., Foulkes, Ellen warner, Olifummilayo Olopade, Andrea Eisen, Barbara weber, Jane Melennan, Pingsun, Steven A., Narod. 2005. *The Risk of Ovarian Cancer after Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 carriers.* J. Gynecology Oncology. 96: 222-226.
- Kusriningrum. 2008. *Perancangan Percobaan.* Airlangga University Press. Surabaya.
- Meiyanto E. 2007. *Kurkumin sebagai Obat Kanker; Menelusuri Mekanisme Aksi.* Majalah Farmasi Indonesia 10 (4): 224-236.
- Naciff J.M., M.L. Jump, S.M. Torontali, G.J. Carr, J.P. Tiesman, G.J. Overmann J. Gary, and G.P. Daston. 2002. *Gene Expression Profile Induced by 17 α -Ethinyl Estradiol, Bisphenol A, and Genistein in the Developing Female Reproductive System of the Rat.* Oxford Journal of Toxicol Science.Vol.68(1):184-99.
- Nurrochmad A. 2004. *Pandangan baru kurkumin dan aktivitasnya sebagai antikanker.* Biofarmasi 2 (2): 75-80.
- Parker, R; L. Ulatowski, G. Warriar, R. Sultana. 2001. *Vitamin E Is Essential For Purkinje Neuron Integrity.* *Neuroscience*; 260:120 - 129.
- Wooster R and B.L. Weber. 2005. *Breast and Ovarian Cancer.* N Engl J Med; 348:2339–2347.

