

ARTIKEL PENELITIAN

Kajian Molekuler p53 Pemanfaatan Tanaman Herbal Buah Legundi (*Vitex trifolia L*) terhadap Massa Tumor Jaringan Kulit

Humairah Medina Liza Lubis

Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Email: humairahmedina@umsu.ac.id

Abstrak: Kanker kulit merupakan kanker terbanyak ketiga setelah kanker leher rahim dan kanker payudara di Indonesia. Di seluruh dunia kanker kulit yang tersering adalah karsinoma sel basal (KSB), karsinoma sel skuamosa (KSS) dan melanoma. Mekanisme antikanker salah satunya melalui peningkatan ekspresi protein p53. Gen p53 adalah suatu *tumor suppressor gene* yang dikenal sebagai *master guardian of the genome* dan merupakan unsur utama yang memelihara stabilitas genetik. Tujuan penelitian adalah untuk (1) membuktikan dan menganalisa potensi antikanker dari ekstrak etanol buah legundi (*V. trifolia*) pada tikus putih yang diinduksi *benzoalphyrene*, (2) membuktikan adanya hubungan antara molekul protein p53 dengan kejadian sel kanker kulit, (3) membuktikan dan menjelaskan patogenesis terjadinya kanker kulit dengan melihat ekspresi protein p53 yang diduga kuat mengalami mutasi dan kerusakan gen. Metode yang dipakai adalah dengan menggunakan sampel 25 blok jaringan tumor kulit dari tikus putih jantan jenis Wistar yang dibagi atas 5 kelompok, dengan 2 kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak buah legundi 0,5g/kgBB/hari dan 1g/kgBB/hari selama 2 minggu secara oral. Hasil penelitian didapatkan 3 *slide* (60%) dari kelompok kontrol yang diinduksi *benzoalphyrene* adalah tumor ganas (*non keratinizing squamous cell carcinoma*), 1 *slide* (20%) lesi atipik, dan 1 *slide* (20%) lesi jinak. Dengan menggunakan pewarnaan imunohistokimia p53 didapatkan bahwa 2 tumor ganas menunjukkan ekspresi protein p53 kuat sedangkan 1 tumor ganas menunjukkan ekspresi sedang. Pada sel atipik menunjukkan ekspresi lemah sedangkan lesi jinak tidak menunjukkan ekspresi protein p53.

Kata Kunci: *p53, buah legundi (Vitex trifolia), massa tumor jaringan kulit*

Molecular Study of p53, Utilization of Legundi Fruit Herbs (Vitex trifolia L) in Skin Tissue Tumor Mass

Abstract: Skin cancer is the third most common cancer after cervical cancer and breast cancer in Indonesia. The most common skin cancers are basal cell carcinoma (BCC), squamous cell carcinoma (ScC) and melanoma in worldwide. Anticancer mechanisms one of them through increased expression of p53 protein. The p53 gene is a suppressor gene tumor known as the master guardian of the genome and is a major element that maintains genetic stability. The aims of the study are (1) to prove and analyze the anticancer potential of legundi fruit ethanol extract (*V. trifolia*) in benzoalphyrene-induced white rats, (2) to prove a link between p53 protein molecule and the incidence of skin cancer cells, (3) to prove and explain the pathogenesis of skin cancer by looking at the expression of p53 protein that is allegedly susceptible to mutations and gene damage. The method was to used a sample of 25 blocks of skin tumor tissue from male Wistar white rats divided into 5 groups, with 2 treatment groups given legundi fruit extract 0,5g / kgBB / day and 1g/ kgBB / day for 2 weeks orally. The results of the study showed that 3 slides (60%) of the benzoalphyrene-induced control group were malignant (non keratinizing squamous cell carcinoma), 1 slide (20%) atypical lesion, and 1 slide (20%) benign lesion. Using immunohistochemical p53 dye, it was found that 2 malignant tumors showed strong p53 protein expression while 1 malignant tumor showed moderate expression. In atypic cells showed a weak expression whereas benign lesions did not show p53 protein expression.

Keywords: p53, legundi frit (*Vitex trifolia*), mass of skin tissue tumors

PENDAHULUAN

Kanker kulit merupakan kanker terbanyak ketiga setelah kanker leher rahim dan kanker payudara di Indonesia.¹ Di seluruh dunia kanker kulit yang tersering adalah karsinoma sel basal (KSB), karsinoma sel skuamosa (KSS) dan melanoma. KSB dan KSS umumnya disebut sebagai kanker kulit non melanoma (KKNM).

Di Jakarta, pada tahun 2000-2009, Poliklinik Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin (IKKK) Rumah Sakit dr Cipto Mangunkusumo (RSCM) melaporkan 261 kasus KSB, diikuti dengan 69 KSS, dan 22 melanoma.² *The International Agency for Research on Cancer (IARC)* dalam *The World Cancer Report 2014* menyatakan

bahwa peningkatan jumlah penderita kanker di dunia merupakan suatu masalah utama bagi perkembangan manusia di dunia. Angka insidensi penderita kanker terus meningkat dan memerlukan suatu penanganan segera untuk mencegah terus meningkatnya angka kematian karena karsinoma. Hal ini dapat dicapai salah satunya dengan deteksi yang tepat bagi karsinoma, baik diagnosis maupun prognosis. Hal ini juga terkait bahwa kanker merupakan suatu penyakit yang melibatkan kompleksitas genetik seperti struktur dan abnormalitas ekspresi yang dikenal sebagai karsinogenesis.

Usaha pencegahan dan penundaan proses karsinogenesis serta pengurangan kanker untuk terjadi kembali, dapat dilakukan dengan pemberian kemopreventif yang berasal dari tanaman yang memiliki potensi sebagai regulator negatif onkogen dan regulator positif *tumor suppressor gene* sebagai antikanker. Sejauh ini, telah banyak penelitian yang mengungkapkan

manfaat dan khasiat dari tanaman legundi ini baik yang berasal dari daun, batang, buah dan bijinya terutama efeknya sebagai antibakteri, antifungi, insektisida, antikanker, analgesik, trakeospasmolitik, antialergi maupun antipiretik. Salah satu penelitian telah dilakukan dengan mengisolasi senyawa bioaktif penolak nyamuk dari ekstrak aseton batang tumbuhan legundi dan adanya senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun tumbuhan legundi.³ Penelitian terhadap efek ekstrak etanol dari bunga legundi pada CCl_4 yang disuntikkan ke dalam mencit putih untuk melihat aktivitas hepatotropik di dalam obat pencegah penyakit hati telah dilakukan oleh Ramasary Anandan.⁴ Hernández *et al*, 1999 telah meneliti aktivitas sitotoksik ekstrak heksan, diklorometan dan metanol terhadap empat sel tumor manusia yaitu sel karsinoma leher, sel kanker ovarium, sel karsinoma kolom dan sel nasofaringeal manusia.⁵ Li *et al*. 2005 mengisolasi enam flavonoid

yang diisolasi dari *V. trifolia* yaitu persikogenin, artemetin, luteolin, penduletin, viteksikarpin dan krisosplenol-D, yang selanjutnya di uji terhadap proliferasi sel kanker tsFT210 tikus. Keenam flavonoid tersebut mampu menghambat proliferasi sel kanker, dengan mekanisme penghambatan siklus sel dan menginduksi apoptosis.⁶

Mekanisme antikanker salah satunya melalui peningkatan ekspresi protein p53. Gen p53 adalah suatu *tumor suppressor gene* yang dikenal sebagai *master guardian of the genome* dan merupakan unsur utama yang memelihara stabilitas genetik.⁷ Banyak penelitian yang telah menggunakan protein (*biomarker*) ini terhadap kanker nasofaring, ovarium, prostat dan lain-lain tetapi pada kanker kulit kebanyakan adalah pada kasus KSB dan melanoma sedangkan pada KSS sangat jarang sekali. Padahal dari hasil penelitian Lubis HML tahun 2016, tikus yang diinduksi *benzoalphapyrene* banyak ditemukan kanker kulit jenis KSS.

Timbul ketertarikan untuk meneliti p53 ini dan menjelaskan karsinogenesis terjadinya kanker kulit akibat mutasi dari gen p53. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan percobaan terhadap potensi antikarsinogenesis ekstrak buah legundi dengan melihat ekspresi protein p53 pada kanker kulit tikus putih yang diinduksi *benzoalphapyrene*.

METODE

Metode yang dipakai adalah dengan menggunakan sampel 25 blok jaringan tumor kulit dari tikus putih jantan jenis Wistar yang dibagi atas 5 kelompok, yaitu (1) blok parafin K1 = blok histologi kelompok kontrol negatif yang diambil dari jaringan kulit tikus normal (tikus hanya diberi diet standar tanpa induksi *benzoalphapyrene*), (2) blok parafin K2 = blok histologi kelompok kontrol positif (tikus diberi diet standar, diinduksi *benzoalphapyrene* pada lapisan subkutan, setelah timbul massa tumor tidak diberi ekstrak buah

legundi, dan diterminasi pada minggu ke-3 untuk melihat jenis tumor kulit secara mikroskopik), (3) blok parafin P1 = blok histologi perlakuan 1 (tikus diberi diet standar, diinduksi *benzoalphapyrene* pada lapisan subkutan bersamaan dengan pemberian ekstrak buah legundi 0,5g/kgBB/hari selama 2 minggu secara oral), (4) blok parafin P2 = blok histologi perlakuan 2 (diberi diet standar, diinduksi *benzoalphapyrene* pada lapisan subkutan, setelah timbul massa tumor diberi ekstrak buah legundi 0,5g/kgBB/hari selama 2 minggu secara oral), (5) blok parafin P3 = blok histologi perlakuan 3 (diberi diet standar, diinduksi

benzoalphapyrene pada lapisan subkutan, setelah timbul massa tumor diberi ekstrak buah legundi 1g/kgBB/hari selama 2 minggu secara oral).

HASIL

Perincian terhadap sampel-sampel yang digunakan berdasarkan diagnosis mikroskopisnya dapat dilihat pada tabel 1.1

Pada pemeriksaan histopatologi dengan pewarnaan *Hematoxyllin Eosin* diperoleh diagnosis *non keratinizing squamous cell carcinoma* sebanyak 3 kasus (12%), lesi atipik 1 kasus (4%), lesi jinak 1 kasus (4%).

	Diagnosis Histopatologi	Jumlah	Persentase (%)
Tumor kulit (+)	Non keratinizing squamous cell carcinoma	3	12
	Lesi atipik	1	4
	Lesi jinak	1	4
Tumor kulit (-)	Normal	20	80
Jumlah		25	100

Tabel 1.1 Persentase diagnosis histopatologi

Sedangkan yang tidak menunjukkan pembengkakan atau tidak timbul tumor, gambaran histopatologi hanya berupa jaringan kulit normal sebanyak 20 kasus (80%).

Dilakukan pewarnaan imuno-histokimia *p53* untuk dapat menilai tampilan masing-masing sampel pada tumor kulit dengan jumlah sampel 5 kasus. Penilaian diagnosis tumor

kulit berupa *non keratinizing squamous cell carcinoma* dijumpai 3 kasus positif (100%) dengan ekspresi kuat 2 kasus dan ekspresi sedang 1 kasus. Sedangkan diagnosis tumor kulit berupa lesi atipik dijumpai 1 kasus positif (100%) dengan ekspresi lemah, lesi jinak dijumpai 1 kasus positif (100%) tidak menunjukkan ekspresi protein *p53*.

	Tumor Kulit (+)						Jumlah	Persentase (%)	
	<i>Non keratinizing squamous cell carcinoma</i>		Lesi Jinak		Lesi Jinak				
	n	%	n	%	n	%			
Imunohistokimia <i>p53</i>	Positif	3	100	1	100	0	0	4	80
	Negatif	0	0	0	0	1	100	1	20
	Jumlah	3	100	1	100	1	100	5	100

Tabel 1.2. Tampilan Imunohistokimia *p53* pada Histopatologi Tumor Kulit

DISKUSI

Pemeriksaan imunohistokimia *p53* dapat digunakan sebagai penanda peningkatan ekspresi protein tersebut pada jaringan. Dari penelitian ini didapatkan data tentang tampilan (ekspresi) imunohistokimia *p53* yang merupakan adalah suatu *tumor suppressor gene* yang dikenal sebagai *master guardian of the genome* dan merupakan unsur utama yang memelihara stabilitas genetik. *Tumor suppressor gene* diperlukan untuk mempertahankan pembelahan sel tetap terkontrol. Gen ini berfungsi untuk mengontrol siklus perkembang biakan sel, replikasi DNA dan pembelahan sel. Bila tidak berfungsi dengan baik maka perkembang biakan sel tidak dapat terkendali dan menimbulkan kanker.

Dengan terdeteksinya gen tersebut menunjukkan telah terjadi mutasi akibat kerusakan pada *tumor suppressor gene* yaitu *p53*. Semakin kuat ekspresi *p53* tersebut menunjukkan keagresifan tumor semakin meningkat dibuktikan dari jaringan kulit yang terdiagnosis sebagai tumor ganas *non keratinizing squamous cell carcinoma* terekspresi kuat pada 2 kasus dan ekspresi sedang pada 1 kasus, sedangkan pada kasus lesi jinak tidak menunjukkan ekspresi protein *p53*.

Untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat, penelitian ini akan dilanjutkan dengan pemeriksaan antibodi lain pendukung lain seperti *Ki-67* dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

KESIMPULAN

Protein *p53* tertampil pada kanker kulit tipe *non keratinizing squamous cell carcinoma* menunjukkan bahwa protein ini telah mengalami mutasi yang berperan dalam karsinogenesis kanker kulit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk menyelenggarakan penelitian melalui Program Penelitian Dosen Pemula tahun usulan 2016 dan tahun pelaksanaan 2017.

DAFTAR PUSTAKA

1. Djuanda A, 2007. Ilmu penyakit kulit dan kelamin. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; p.229-41.
2. Cipto H. 2010. Patients characteristic in skin tumor and skin surgerydivision, Department of Dermatovenereology FKUI-RSCM, Jakarta. Indones J Oncol. *In press*.

3. Mustanir dan Rosnani, 2008. Isolasi Senyawa Bioaktif Penolak (Repellent) Nyamuk Dari Ekstrak Aseton Batang Tumbuhan Legundi (*Vitex trifolia*). *Bul. Littro*. Vol. XIX No. 2 : 174-180.
4. Anandan, R, *et al.* Effect of Ethanol Extract of Flowers of *Vitex trifolia* Linn. n CCL4 Induced Hepatic Injury in Rats 2009. *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol.22, No.4, October : 391-394.
5. Herná´ndez, M.M., Heraso, C., Villarreal, M.L., Vargas-Arispuro, Aranda, E., 1999, Biological activities of crude plant extracts from *Vitex trifolia* L. (Verbenaceae), *J. of Ethnopharmacol.*, 67 : 37–44.
6. Li, W.X., Cui, C.B., Cai, B., Yao, X.S., 2005a, Labdane-type diterpenes as new cell cycle inhibitors and apoptosis inducers from *V. trifolia*, *J Asian Nat Prod Res.*, 7(2) : 95-105.
7. Sofyan R., Terapi kanker pada tingkat molekuler. *Cermin Dunia Kedokteran* : 127, 5-10.