

Pemanfaatan Tepung Tempe Kedelai untuk Penghambatan Kanker Kelenjar Mammae Pada Mencit Strain C3H

(Utilization of Soy Tempeh Flour to Inhibit of Mammary Gland Cancer in C3H Mice)

Maya Indah Oktavianti, Mahriani, Eva Tyas Utami*)

*)Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas jember (UNEJ)

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

E-mail: yani_hendro@yahoo.com

Abstrak

Kanker payudara atau kanker kelenjar mammae merupakan tumor ganas pada jaringan payudara atau mammae, yang terjadi akibat pertumbuhan sel kelenjar mammae yang tidak terkontrol karena terjadi perubahan abnormal pada gen yang berperan dalam pembelahan sel. Di Indonesia, kanker payudara merupakan penyebab kematian terbesar kedua pada wanita setelah kanker serviks. Tempe kedelai mengandung isoflavon yang bersifat sebagai antikanker dan nontoksik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan dosis tepung tempe kedelai yang efektif untuk menghambat pertumbuhan kanker kelenjar mammae mencit C3H. Pengamatan penghambatan kanker kelenjar mammae dilakukan dengan pemberian tepung tempe kedelai dengan beberapa variasi konsentrasi yaitu 0,8 g, 1,6 g, 2,4 g, dan 3,2 g kemudian hewan uji diinokulasi sel *adenocarcinoma mammae*. Pengukuran diameter tumor dilakukan untuk mengetahui adanya pertumbuhan sel kanker. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe kedelai sampai dengan dosis perlakuan 3,2 g tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan kanker kelenjar mammae pada mencit C3H. Namun pemberian tepung tempe kedelai memiliki kecenderungan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker yang dibuktikan dengan ukuran diameter tumor yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol.

Kata Kunci: Isoflavon, Kanker, Mencit C3H, Tepung tempe kedelai

Abstract

Breast Cancer or mammary gland cancer is a malignant tumor in the breast tissue or mammary, which occurs due to the growth of the mammary gland cells that are not controlled, because there are abnormal changes in the genes that play a role in cell division. In Indonesia, breast cancer is the second leading cause of death in women after cervical cancer. Soy tempeh contains isoflavones that act as anticancer and nontoxic. This research aims to determine the effect and dosage of soy tempeh flour which effective to inhibit the growth of mammary gland cancer in C3H mice. Observation inhibition of mammary gland cancer by given a tempeh flour in several concentration i.e 0,8 g, 1,6 g, 2,4 g, and 3,2 g then the C3H mice were inoculated with adenocarcinoma mammae cells. Tumor diameter measurements conducted to determine the growth of cancer cells. The result showed that administration of soy tempeh flour until concentration 3,2 g no effect in inhibiting the growth of mammary gland cancer in C3H mice. But the provision of soy tempeh flour has a tendency to inhibit the growth of cancer cells as evidenced by the size of diameter tumor smaller than control.

Keywords: Isoflavones, Cancer, C3H mice, Soy tempeh flour

PENDAHULUAN

Kanker payudara atau kanker kelenjar mammae merupakan tumor ganas pada jaringan payudara atau mammae, yang terjadi akibat pertumbuhan sel kelenjar payudara yang tidak terkontrol karena terjadi perubahan abnormal pada gen yang berperan dalam pembelahan sel [7]. Pada kurun waktu 5 tahun terakhir sebanyak 6,3 juta wanita di dunia telah terkena kanker payudara. Sejak tahun 2008 diperkirakan insidensi kanker payudara meningkat lebih dari 20% dengan angka kematian meningkat sebesar 14% [6]. Di Indonesia, kanker payudara merupakan penyebab kematian terbesar kedua pada wanita setelah kanker serviks [14].

Berbagai upaya pengobatan kanker payudara yang telah dilakukan antara lain berupa tindakan pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi belum cukup efektif untuk

mengurangi insidensi kanker payudara [13]. Sampai saat ini, biaya pengobatan yang relatif mahal dan hasil pengobatan yang belum memuaskan masih menjadi kendala dalam proses pengobatan kanker payudara.

Salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk menghambat pertumbuhan kanker payudara adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami yang memiliki sifat antikanker dan nontoksik [3]. Bahan alami yang dapat digunakan dalam upaya penghambatan kanker payudara adalah tempe kedelai. Dalam tempe kedelai terdapat senyawa aktif isoflavon yang memiliki aktivitas mirip estrogen, sehingga diduga berperan penting pada kanker payudara [1]. Hal ini terkait dengan struktur kimia isoflavon yang serupa dengan estradiol, sehingga dapat berikatan dengan reseptor estrogen [5].

Senyawa isoflavon pada tempe kedelai terdiri atas daidzein, genistein, dan glisitein [5]. Genistein diketahui

dapat berikatan lebih kuat dengan reseptor estrogen apabila dibandingkan dengan jenis isoflavon yang lain [2].

Penelitian mengenai potensi genistein dalam menghambat kanker telah banyak dilakukan, antara lain pemberian genistein yang terdapat pada kedelai terbukti dapat menghambat proliferasi pada pertumbuhan sel kultur kanker payudara manusia [15]. Dan pemberian genistein pada konsentrasi 208,31 $\mu\text{g/ml}$ dapat menyebabkan kematian sel kultur kanker MCF-7 sebesar 50% (LC_{50}) [9]. Hal inilah yang melatarbelakangi dilakukannya penelitian tentang pemanfaatan tepung tempe kedelai untuk penghambatan kanker kelenjar mammae pada mencit strain C3H sehingga diketahui pengaruh dan dosis tepung tempe kedelai yang efektif dalam menghambat pertumbuhan kanker.

METODE PENELITIAN

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember dan dilanjutkan di Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit 4 Universitas Gadjah Mada pada bulan Oktober 2014 sampai bulan Februari 2015.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang plastik berukuran $30 \times 20 \times 15 \text{ cm}^3$ dengan tutup terbuat dari kawat ram, termometer, hygrometer, grinder, ayakan (70 mesh), spatula, sonde, papan dan alat seksi, jarum suntik ukuran $18 \times 1\frac{1}{2}$ ", cawan petri, neraca, kamera digital, gelas ukur, tabung ukur, kaliper.

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini meliputi mencit C3H betina donor, 15 ekor mencit C3H resipien umur 5 minggu dengan berat badan sekitar ± 15 gram yang diperoleh dari Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) unit 4 Universitas Gadjah Mada, pellet AD II, aquadest, sekam, tempe kedelai yang diperoleh dari tempat produksi tempe berkualitas tinggi di Jember, chloroform, buffer phosphate pH 7, es, dan kertas label

Tahapan Penelitian

Pemeliharaan Hewan uji

Mencit C3H dikelompokkan menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor. Tiap kelompok ditempatkan pada kandang plastik berukuran $30 \times 20 \times 15 \text{ cm}$ dan dialasi sekam. Mencit diberi pakan pellet AD II dan minum secara *ad libitum*. Kandang dikondisikan tidak lembab dengan suhu $27-30^\circ\text{C}$ dan kelembaban 75-90%. Selanjutnya mencit diadaptasikan selama 7 hari.

Pembuatan Tepung Tempe Kedelai

Tempe dengan lama fermentasi 48 jam kemudian dipotong dadu berukuran $0,5 \times 0,5 \text{ cm}^2$ dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 45°C selama 24 jam. Tempe yang sudah kering selanjutnya dihaluskan menggunakan grinder dan dilakukan pengayakan (70 mesh).

Penentuan Dosis dan Aplikasi Perlakuan Tepung tempe kedelai

Dosis yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada dosis genistein 208,31 $\mu\text{g/ml}$ dapat menyebabkan kematian 50% sel kanker MCF-7 [9]. Dengan demikian dosis tepung tempe yang digunakan pada penelitian ini yaitu 0,8 g; 1,6 g; 2,4 g; dan 3,2 g. Masing-masing dosis dilarutkan menggunakan aquades hingga volume 16 ml, dan diberikan secara *gavage* dengan volume pemberian sebanyak 1 ml/hari. Setelah tahap pemberian tepung tempe kedelai semua mencit diinokulasi bubur tumor.

Pembuatan Bubur Tumor

Mencit C3H donor dimatikan dengan menggunakan chloroform, kemudian dilakukan pembedahan untuk mengambil jaringan tumor. Jaringan tumor dicacah dalam cawan petri yang diletakkan di atas es batu dan ditambah PBS hingga homogen.

Inokulasi Bubur Tumor Pada Hewan Uji

Setelah mencit C3H diberi perlakuan tepung tempe secara *gavage* selama 16 hari, dilakukan inokulasi bubur tumor pada hari ke-17 di bagian aksila kanan secara subkutan. Proses inokulasi dilakukan menggunakan jarum suntik ukuran $18 \times 1\frac{1}{2}$ ". Volume bubur tumor yang diinokulasikan adalah 0,2 ml untuk setiap ekor mencit.

Parameter Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 6 minggu dimulai sejak inokulasi bubur tumor pada masing-masing kelompok. Parameter pengamatan pada masing-masing kelompok dengan melihat:

a. Diameter tumor

Pengukuran diameter tumor dilakukan secara visual dan perabaan dengan mengukur tumor sebanyak tiga kali kemudian diambil rata-rata. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan kaliper setiap 10 hari sekali.

b. Berat badan

Penimbangan berat badan dilakukan pada awal tahap *gavage* dan pada saat inokulasi bubur tumor. Setelah tumor mulai tumbuh penimbangan berat badan dilakukan setiap 10 hari sekali.

Analisis Data

Data diameter tumor dan berat badan dianalisis menggunakan One Way Anova dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$)

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menggunakan uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe kedelai terhadap diameter tumor tidak berbeda secara nyata. Tetapi terlihat adanya kecenderungan penurunan diameter tumor seiring dengan peningkatan dosis yang diberikan. Hasil pengamatan rata-rata diameter tumor pada setiap waktu pengukuran dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2. Tabel 1. Rata-rata diameter tumor pada setiap waktu pengukuran

Dosis	Rata-Diameter Tumor ± SD (cm) Hari Ke-			
	1 Tumbuh Tumor	10 STT	20 STT	30 STT
kontrol	0,74±0,15 ^a	1,64±0,11 ^b	2,24±0,12 ^b	2,64±0,15 ^a
0,8 g	0,65±0,50 ^a	1,47±0,17 ^{ab}	2,06±0,18 ^{ab}	2,45±0,17 ^a
1,6 g	0,63±0,62 ^a	1,47±0,13 ^{ab}	2,01±0,20 ^{ab}	2,41±0,33 ^a
2,4 g	0,64±0,21 ^a	1,42±0,15 ^{ab}	1,99±0,14 ^{ab}	2,40±0,30 ^a
3,2 g	0,61±0,49 ^a	1,29±0,28 ^a	1,87±0,14 ^a	2,40±0,08 ^a

keterangan: angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata pada $p < 0,05$.

Tabel 2. Rata-rata pertambahan diameter tumor pada 10 hari pertama, kedua, dan ketiga.

Dosis	Rata-Rata Pertambahan Diameter Tumor ± SD (cm)		
	10 Hari Pertama	10 Hari Kedua	10 Hari Ketiga
kontrol	0,91 ± 0,21 ^a	0,60 ± 0,01 ^a	0,40 ± 0,03 ^a
0,8 g	0,82 ± 0,21 ^a	0,59 ± 0,05 ^a	0,39 ± 0,03 ^a
1,6 g	0,82 ± 0,50 ^a	0,54 ± 0,07 ^a	0,40 ± 0,14 ^a
2,4 g	0,78 ± 0,16 ^a	0,57 ± 0,03 ^a	0,41 ± 0,17 ^a
3,2 g	0,68 ± 0,25 ^a	0,58 ± 0,13 ^a	0,52 ± 0,15 ^a

keterangan: angka yang diikuti huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata pada $p < 0,05$.

PEMBAHASAN

Hasil uji anova menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe kedelai terhadap pertumbuhan diameter tumor tidak berbeda nyata. Hal ini diduga karena genistein yang terkandung dalam tepung tempe kedelai pada dosis perlakuan yang diuji belum efektif untuk menghambat perkembangan tumor.

Walaupun secara statistik pemberian tepung tempe kedelai tidak berpengaruh nyata, tetapi terlihat adanya kecenderungan dapat menghambat diameter tumor yang ditunjukkan pada kelompok kontrol memiliki rerata diameter tumor yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok uji, sehingga semakin tinggi dosis tepung tempe kedelai cenderung menyebabkan diameter tumor yang semakin kecil. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe kedelai dapat menghambat perkembangan diameter tumor, karena dalam tepung tempe kedelai mengandung senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan tumor. Hal ini dikarenakan di dalam tepung tempe kedelai terdapat senyawa isoflavon yang mampu berikatan dengan reseptor estrogen pada sel-sel duktus kelenjar mammae. Isoflavon utama pada kedelai yang berperan sebagai agen kemopreventif adalah genistein [8]. Interaksi genistein dengan reseptor estrogen dapat menghambat tirosin kinase [11] dan mengganggu metabolisme sel tumor [10].

Pertumbuhan sel tumor tergantung pada penghantaran sinyal oleh protein tirosin kinase sebagai komponen pengendali biologis yang mengatur pertumbuhan sel. Reseptor tirosin kinase memiliki peran penting dalam transduksi sinyal dari lingkungan luar sel ke bagian dalam

sel [16]. Genistein diketahui dapat menghambat tirosin kinase, khususnya pada proses fosforilasi dan aktivasi EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) yang penting dalam mengatur proses apoptosis dan proliferasi sel [4]. Genistein yang terdapat pada tepung tempe mampu menghambat pertumbuhan sel kanker dengan cara menduduki tempat pengikatan ATP protein tirosin kinase. Semakin banyak genistein yang berikatan dengan protein tirosin kinase maka aktifitas protein tirosin kinase juga akan mengalami penurunan. Dengan demikian semakin banyak genistein yang diberikan akan semakin menurunkan kecepatan siklus perbanyak sel tumor [11].

Gangguan metabolisme sel tumor dapat berpengaruh pada proses proliferasi sel tumor. Isoflavon yang terdapat pada tepung tempe kedelai diduga juga dapat meningkatkan ekspresi gen penekan tumor p53 dan dapat menghambat induksi siklus sel pada fase G1. Gen penekan tumor P53 merupakan fosfoprotein yang berfungsi sebagai penekan keganasan pada sel tumor. Apabila terjadi mutasi DNA maka ekspresi gen penekan tumor P53 dalam sel meningkat sehingga akan menghentikan siklus sel pada fase G1, dan memberi kesempatan sel untuk melakukan perbaikan DNA dengan cara meningkatkan transkripsi gen inhibitor kinase dependen-siklin (p21). Dengan demikian gen penekan tumor p53 berperan penting dalam proses penghambatan proliferasi sel tumor [12].

Peningkatan ukuran diameter tumor menunjukkan adanya proliferasi sel tumor pada kelenjar mammae mencit C3H. Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa pemberian tepung tempe kedelai terhadap pertambahan diameter tumor tidak berbeda nyata pada 10 hari pertama ($\alpha = 0,701$), 10 hari kedua ($\alpha = 0,903$), dan 10 hari ketiga ($\alpha = 0,648$). Hal ini diduga karena genistein yang terdapat dalam tepung tempe kedelai pada dosis perlakuan yang diuji belum efektif untuk menghambat pertambahan diameter tumor. Genistein memiliki sifat estrogen agonis dan antagonis sehingga dapat menghambat atau memicu tumbuhnya tumor [18].

Secara umum pertambahan diameter tumor menurun seiring dengan lama waktu pengamatan. Walaupun berdasarkan uji statistik pemberian tepung tempe berpengaruh tidak nyata terhadap pertambahan diameter tumor pada setiap waktu pengukuran, tetapi terlihat bahwa pertambahan diameter tumor tertinggi terjadi pada 10 hari pertama. Kemudian terjadi penurunan pertambahan diameter pada 10 hari kedua dan 10 hari ketiga. Hal ini dikarenakan sel kanker tumbuh biner, secara eksponensial (2^n sel) hingga terbentuk gerombolan sel berupa tumor. Semakin besar ukuran tumor maka pertumbuhan sel tumor menjadi lambat karena keterbatasan pasokan darah, dan ruang tempat tumbuh [17].

KESIMPULAN DAN SARAN

Pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian tepung tempe kedelai sampai dengan dosis perlakuan 3,2 gram tidak berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan kanker kelenjar mammae pada mencit C3H yang diinokulasi sel *adenocarcinoma mammae*. Namun pemberian tepung tempe kedelai cenderung menghambat pertumbuhan kanker yang ditunjukkan dengan ukuran diameter tumor yang lebih

kecil. Belum diketahui dosis yang efektif untuk menghambat pertumbuhan kanker kelenjar mammae. Perlu dilakukan ekstraksi tepung tempe kedelai untuk mengetahui efek isoflavon dalam menghambat pertumbuhan kanker kelenjar mammae.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dra. Mahriani, M.Si. yang telah mendanai penelitian ini dengan sumber dana Dikti melalui skim Hibah Bersaing.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Allred, C.D., Allred K.F., Ju, Y.H., Goepfing, T.S., Doerge, D.R. dan Helferich, W.G. 2004. Soy Processing Influences Growth of Estrogen-Dependent Breast Cancer Tumors. *Carcinogenesis*. 25(9): 1649-1657.
- [2] Constantinou, A., Bethany, E.P., White, Debra, T., Yanan, Y., Wenzhong, L., Wenkui, L., Richard, B., dan Van, B. 2005. The Soy Isoflavone Daidzein Improves the Capacity of Tamoxifen to Prevent Mammary Tumours. *European Journal of Cancer* 41: 647-654.
- [3] Demeule, M., Levesque, J.M., Annabi, B., Gingras, D., Boivin, D., dan Jodoin, J. 2002. Green Tea Catechins as Novel Antitumor and Antiangiogenic Compounds. *Curr. Med. Chem-Anticancer Agents*. 2: 441-463.
- [4] Duffy, C., Kimberly, P., dan Ann, P. 2007. Implications of Phytoestrogen Intake for Breast Cancer. *A Cancer Journal for Clinicians*. 57(5): 260-277.
- [5] Eldridge, A.C., dan Kwolek, W.F. 1983. Soybean Isoflavones: Effect of Environment and Variety on Composition. *J Agric Food Chem*. 31(2): 394-396.
- [6] *International Agency for Research on Cancer*. 2013. *Globocan 2012 Cancer Incidence and Mortality Worldwide, IARC CancerBase No. 11*. Online. <http://globocan.iarc.fr>. [Diakses 15 Maret 2014].
- [7] Kresno, S.B. 2011. *Ilmu Dasar Onkologi Edisi 2*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- [8] Kwon, Y. 2014. Effect of Soy Isoflavones on the Growth of Human Breast Tumors; Findings From Preclinical Studies. *Food Science & nutrition*. 2 (6): 613-622.
- [9] Mahriani, dan Utami, E.T. 2014. Uji Sitotoksik Senyawa Genistein Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7 Secara In Vitro. *Laporan Penelitian Hibah Bersaing*. FMIPA: Universitas Jember. 18-30.
- [10] Murakami, A., Ohgashi, A., dan Koshimazu, K. 1996. Antitumor Promotion With Food Phytochemicals: A Strategy for Cancer Chemoprevention. *J Perfumer & Florist*. 9: 27-29.
- [11] Polkowski, K., dan Mazurek A.P. 2000. Biological Properties of Genistein. A Review of In Vitro and In Vivo Data. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*. 57(2): 135-155.
- [12] Robbins, S.L., Kumar, V., dan Cotran, R.Z. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- [13] Rita, Y.L., dan Damayanti, M.S., 2005. *Evaluasi Penatalaksanaan Kasus Mual dan Muntah pasca Kemoterapi Kanker Payudara dan Servik di Rumah Sakit X Yogyakarta Periode 2004-2005*. Online. www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/rita.pdf. [Diakses 15 Maret 2014].
- [14] Satuman dan Fatmawati, H. 2009. *Sel Punca Kanker Payudara dan Upaya Pengendaliannya Dengan Bahan Alami*. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- [15] Santell, R.C., Kieu, N., dan Helferich, W.G. 2000. Genistein Inhibits Growth of Estrogen-Independent Human Breast Cancer Cells in Culture But Not in Athymic Mice. *J Nutr*. 130: 1665-1669
- [16] Saxena, S., Jyoti., dan Archana, S. 2014. Soybean Seeds-An Approach to Treatment of Breast Cancer. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. Vol 3 (8): 1972-1982
- [17] Utami, S.A. 2008. Efek Cyclophosphamid-Transfer Faktor Terhadap Proliferasi Sel (AgNOR) dan Volume Tumor Adeno Ca Mammae Mencit. *Tesis*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- [18] Wolfe, B. 2012. Roles of Resveratrol and Genistein in Invasion and Metastasis of Breast Cancer. *College of Science and Health Theses and Dissertation*. Chicago: Depaul University.