

Efek Imunomodulator Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma Longifolia*, Jack) terhadap Ekspresi CD57 pada Hepar Tikus yang Diberi Doksorubisin

Nurma Wahyuningtyas^{1*}, Danang Prasetyaning Amukti¹, Laela Hayu Nurani¹, Nina Salamah^{1,2}

¹Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

²Ahmad Dahlan Halal Center, Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia
Email: nurmawahyu27@gmail.com

ABSTRAK

Agen kemoterapi yang terbukti dapat menurunkan imunitas tubuh adalah doksorubisin. Akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, Jack) telah digunakan untuk meningkatkan imunitas serta antikanker. CD57 merupakan suatu penanda diferensiasi terminal dan disfungsi limfosit pada sel T CD8⁺, CD4⁺, dan NK sel. Studi ini menyelidiki efek EEAPB pada ekspresi CD57 hati mencit SD (*Sprague Dawley*) yang diberi doksorubisin. Dalam penelitian ini, 49 tikus dibagi menjadi 7 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol doksorubisin, kelompok II sebagai kontrol EEAPB 200 mg/kgBB, dan kelompok III, IV, dan V sebagai kelompok perlakuan doksorubisin + EEAPB 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB. Kelompok VI sebagai kontrol pelarut (CMC Na 1%), dan kelompok VII sebagai kontrol sehat. Penelitian dilanjutkan dengan pewarnaan hati tikus dengan imunohistokimia untuk mengidentifikasi ekspresi CD57, dan pengujian statistik dilakukan dengan SPSS. Seluruh kelompok perlakuan mempunyai efek penurunan % ekspresi CD57 secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol doksorubisin. Oleh karena itu, EEAPB dapat meningkatkan imunitas dengan menurunkan persentase ekspresi CD57 pada hati tikus strain SD yang telah diberikan doksorubisin secara signifikan dan dosis yang dapat menurunkan persentase ekspresi CD57 maksimal, yaitu 50 mg/Kg BB.

Kata Kunci: Doksorubisin, Kemoterapi, Pasak Bumi, Anti kanker, Hepatoprotektor

ABSTRACT

A chemotherapy agent that has been shown to lower immunity is doxorubicin. The root of pasak bumi (Eurycoma longifolia, Jack) has been used to boost immunity and as an anticancer. CD57 is a marker of terminal differentiation and lymphocyte dysfunction in CD8⁺, CD4⁺, and NK T cells. This study investigated the effect of EEAPB on liver CD57

expression of SD (Sprague Dawley) mice treated with doxorubicin. In this study, 49 mice were divided into seven groups. Group I as doxorubicin control, group II as EEAPB 200 mg/kgBB control, and groups III, IV, and V as doxorubicin + EEAPB 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, and 200 mg/kgBB treatment groups. Group VI was used as solvent control (CMC Na 1%), and group VII was used as healthy control. The study was followed by staining the liver of mice with immunohistochemistry to identify CD57 expression, and statistical testing was performed with SPSS. All treatment groups had the effect of decreasing the % expression of CD57 compared to the doxorubicin control group. Therefore, EEAPB can improve immunity by reducing the percentage of CD57 expression in the liver of SD strain rats that have been given doxorubicin at a dose that reduces the maximum rate of CD57 expression, which is 50 mg/Kg BW.

Keywords: *Doxorubicin, Chemotherapy, Eurycoma longifolia, Anti-cancer, Hepatoprotector*

I. PENDAHULUAN

Peningkatan kematian yang disebabkan oleh kanker mencapai 9,6 juta sedangkan terdapat 18,1 juta kasus kanker pada tahun 2018, data ini dikemukakan oleh Organisasi Kesehatan Dunia, *Global Burden of Cancer* (GLOBOCAN) (Al Aradi *et al.*, 2022; De Guzman & Malik, 2019). Kemoterapi, pembedahan, radiasi, dan pengobatan tradisional telah digunakan untuk mengurangi kanker (Iwata *et al.*, 2016). Doksorubisin adalah agen kemoterapi yang paling sering digunakan pada kanker payudara, kanker leukemia akut, kanker ovarium, dan kanker tulang (Nie *et al.*, 2016). Penggunaan doksorubisin meningkat setiap tahun nya. Namun, doksorubisin toksik pada sel normal selain melawan sel kanker yang menyebabkan sistem kekebalan terganggu (Garg *et al.*, 2023).

Doksorubisin dapat menurunkan imunitas tubuh dengan mencegah

proliferasi limfosit T CD8⁺ dan juga meningkatkan laju apoptosis sel imun (Hosseini & Sahebkar, 2017). Doksorubisin juga terbukti dapat menurunkan % ekspresi CD4 pada hati tikus yang telah diinduksi doksorubisin (He *et al.*, 2020). Sel T CD4⁺, CD8⁺, dan NK sel mengekspresikan CD57 saat mengalami terminal diferensiasi (Christowitz *et al.*, 2019). Terminal diferensiasi merupakan keadaan dimana sel tersebut tidak dapat lagi berproliferasi dan berdiferensiasi untuk merespon/membunuh sel-sel yang terinfeksi (disfungsi limfosit) sehingga sel imun tidak mampu lagi membunuh sel yang terinfeksi (Chung *et al.*, 2017). Meningkatnya apoptosis pada sel T CD8⁺, CD4⁺ dan NK sel akan mengakibatkan tingginya ekspresi CD57 (Zhao *et al.*, 2022). Senyawa yang dapat menekan efek samping dari doksorubisin tersebut diperlukan untuk meningkatkan imunitas tubuh kembali dengan dapat

menurunkan ekspresi dari CD57 (Simonetta *et al.*, 2014).

Tanaman yang digunakan untuk meningkatkan kekebalan tubuh dan melawan kanker dikenal sebagai akar pasak bumi (Guyonnet *et al.*, 2018). Mekanisme kerja kuasinoid Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (EEAPB) sebagai antikanker diduga melibatkan stimulasi apoptosis atau penghambatan proliferasi sel kanker, serta pengaruh enzim antioksidan dan respons imun seluler (John *et al.*, 2024). Kombinasi ekstrak akar pasak bumi dan doksorubisin mempunyai efek antagonis terhadap sel limfosit normal, fraksi etil asetat ekstrak akar pasak bumi dapat menurunkan efek toksik doksorubisin pada sel limfosit (Agnello *et al.*, 2023).

Maka dari itu, penelitian untuk mengetahui pengaruh EEAPB terhadap ekspresi CD57 pada hati tikus strain SD yang diberi doksorubisin dan dosis yang dapat menurunkan ekspresi CD57 perlu dilakukan. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam perkembangan obat tradisional di Indonesia.

II. METODE

A. Alat Dan Bahan

Bahan dan alat dalam penelitian ini termasuk tikus Galur *Sprague Dawley* (SD) jantan, formalin, CMC-Na, aquadest, serbuk akar pasak bumi yang diperoleh dari kota Banjarmasin (Kalimantan Selatan) dan

doksorubisin. Timbangan analitik, pisau, bedah meja operasi, alat gelas, sarung tangan, mikroskop, masker, kertas saring, maserasi toples, pengaduk magnetik, pemanas air, mikropipet, cawan porselen, karet pengikat, batang pengaduk, dan pot untuk ekstrak.

B. Jalannya Penelitian

Studi dilaksanakan di Laboratorium Farmasi Universitas Ahmad Dahlan selama tiga bulan dan sudah mendapatkan persetujuan dari komite etik penelitian universitas ahmad dahlan dengan nomor F6/98/1.0/VII/2012. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Penelitian terdiri dari beberapa tahap, seperti:

1. Ekstraksi serbuk akar pasak bumi.

Pelarut etanol 70% sebanyak 3 liter digunakan untuk mengekstraksi 1000 gram serbuk akar pasak bumi. Setelah itu, digunakan pengaduk magnet selama tiga jam untuk mengaduknya. Untuk mempercepat maserasi akar pasak bumi, diamkan selama 24 jam. Selanjutnya, saring dengan kertas saring dan corong Buchner. Setelah itu, dievaporasi dengan *rotary evaporator* sampai menghasilkan maserat kental. Filtrat dipanaskan di atas penangas air dengan cawan porselin sampai mengental.

2. Persiapan hewan uji.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan tikus galur SD yang berumur tiga minggu dan berbobot sekitar 200 gr. Hewan terlihat sehat dan tidak menunjukkan cacat apa pun. Dalam satu kandang, tujuh tikus ditempatkan dan diberi makan dan minum secukupnya. Tikus diberi perawatan setelah tujuh hari adaptasi. Tikus ditimbang setiap hari selama penelitian. Tujuh kelompok masing-masing memiliki 49 tikus, yaitu

Kelompok I : Dalam kelompok kontrol doksorubisin, dosis doksorubisin 4,67 mg/kg BB diberikan intra muskular (i.m).

Kelompok II : Dalam kelompok kontrol ekstrak, dosis EEAPB 200 mg/kgBB diberikan secara oral.

Kelompok III : Untuk kelompok perlakuan, dosis doksorubisin 4,67 mg/kgBB dan dosis EEAPB 50 mg/kgBB secara oral.

Kelompok IV : kelompok perlakuan, dosis doksorubisin 4,67 mg/kg BB dan dosis EEAPB 100 mg/kgBB secara oral.

Kelompok V : Untuk kelompok perlakuan, dosis doksorubisin 4,67 mg/kg BB dan dosis EEAPB 200 mg/kgBB.

Kelompok VI : kelompok kontrol pelarut diberi perawatan oral CMC Na 1%.

Kelompok VII : kelompok sehat (tanpa perlakuan)

Doksorubisin diberikan setiap 3 hari sekali selama 14 hari secara intramuskular sedangkan pemberian EEAPB setiap hari

secara oral. Untuk kelompok kontrol pelarut CMC Na 1% diberikan setiap hari secara oral.

3. Pengambilan organ hati hewan uji

Empat puluh sembilan tikus SD yang dirawat selama dua minggu di korban kan, setelah itu organ hati mereka diambil. Sebelum organ diambil, larutan natrium klorida fisiologis digunakan untuk membersihkannya, dan kemudian dimasukkan ke dalam pot dan ditutup dengan larutan formalin 10% untuk fiksasi.

4. Uji imunohistokimia (IHC)

Organ hati tikus yang sudah difiksasi dikirim ke laboratorium patologi, kedokteran umum UGM. Dimulai dengan memotong jaringan dengan pisau skapel setebal 3-5 mm dan 1 x 1 cm. Jaringan dimasukkan ke dalam kaset yang ditanam. Selanjutnya, dehidrasi, proses yang dimaksudkan untuk menghilangkan udara dari jaringan. Etanol digunakan secara bertahap untuk mendehidrasi. Larutan etanol digunakan berulang kali, dengan 80 persen etanol digunakan sekali selama dua jam, 95 persen etanol digunakan sekali lagi selama dua jam, dan 100 persen etanol digunakan sekali lagi selama dua jam. Setelah itu, *xylene* digunakan tiga kali untuk menghilangkan cairan yang dikeringkan dari jaringan.

Setelah pembersihannya selesai, proses pembuatan dilanjutkan dengan impregnasi. Impregnasi adalah proses di

mana reagen pembersih parafin dimasukkan ke dalam jaringan. Proses ini dilakukan tiga kali, dengan durasi masing-masing 60 menit. Setelah jaringan dimasukkan ke dalam *casette* penempatan dan diisi dengan parafin cair, jaringan dipindahkan ke dalam cetakan dasar. Selanjutnya, jaringan dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 hingga 7 mikron. Hasil pemotongan kemudian direndam dalam air hangat selama 0,5 jam di atas plat panas. Setelah itu, blok parafin dicat dengan *hematoxylin Meyer* dan diamati di bawah mikroskop cahaya.

C. Analisis Data

Dilakukan perhitungan jumlah sel yang terekspresi dan sel yang tidak terekspresi pada masing-masing preparat kemudian dihitung % ekspresi CD57, dengan cara persamaan 1 berikut.

$$\% \text{ ekspresi} = \frac{\text{Jumlah sel terekspresi}}{\text{Total sel keseluruhan}} \times 100 \% \dots(1)$$

Data % ekspresi CD57 yang didapat kemudian di uji statistika dengan taraf kepercayaan 95%. Data yang diperoleh ditentukan termasuk data parametrik atau non parametrik dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas *Levene*. Jika distribusi data parametrik normal dan homogen, analisis dilanjutkan dengan uji Anova dan LSD. Sebaliknya,

jika distribusi data non-parametrik berbeda, data dimasukkan dan diuji dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann-Whitney*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dengan menggunakan metode maserasi dimana 3 liter etanol 70% digunakan sebagai pelarut untuk mengekstraksi 1000 gram serbuk akar pasak bumi. Selanjutnya, menggunakan stirer, dicampur selama 3 jam. Pelarut etanol 70% dapat digunakan untuk mengekstraksi komponen zat aktif dari akar pasak bumi (Anwar *et al.*, 2021). Alkohol 70% digunakan dalam proses ekstraksi karena memiliki keseimbangan optimal antara polaritas dan kemampuan penetrasi sel. Konsentrasi ini cukup tinggi untuk melarutkan senyawa polar dan semi-polar, seperti flavonoid dan alkaloid, yang sering ditemukan dalam bahan tanaman. Selain itu, alkohol 70% dapat menembus dinding sel lebih efektif dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih tinggi, yang cenderung mengkoagulasi protein dan menghambat proses ekstraksi. Dari hasil ekstraksi didapatkan 40,27 gram ekstrak kental dengan rendemen 4,03%.

A. Pengamatan Ekspresi CD57 dengan Metode Imunohistokimia.

Aktivitas ekstrak etanol akar pasak bumi sebagai imunomodulator pada kanker perlu ditelusuri lebih lanjut dengan

mengamati ekspresi yang dapat digunakan sebagai penanda imunitas tubuh. Ekspresi CD57 pada limfosit menunjukkan ketidakmampuan limfosit untuk proliferasi dan telah terbukti terdapat pada sel T CD4 dan CD8 pada tahap akhir diferensiasi. Frekuensi sel yang mengekspresikan CD57 dalam darah dan jaringan telah berkorelasi dengan prognosis klinis pada infeksi kronis atau berbagai jenis kanker (Hassouneh *et al.*, 2017). Ekspresi CD57 juga menjadi penanda tahap akhir pematangan sel NK perifer dengan berkurangnya kemampuan untuk replikasi dan ekspresinya meningkat seiring bertambahnya usia dan berhubungan dengan infeksi kronis (Yao *et al.*, 2020).

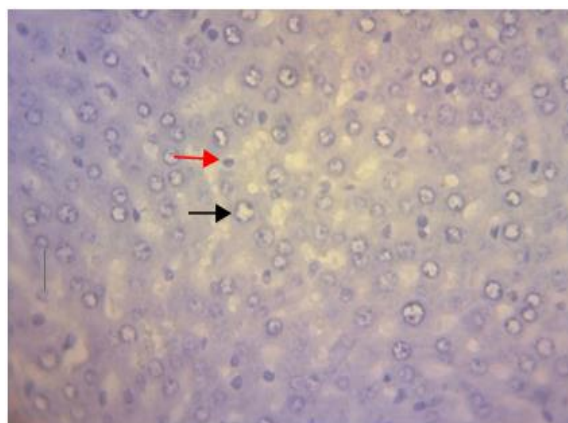
Sel T CD4⁺ adalah komponen utama respon imun adaptif yang menjadi bagian integral dalam proses aktivasi dan regulasi respon host terhadap banyak patogen (Jaigirdar & MacLeod, 2015). Salah satu peran utamanya yaitu “pengatur” respons imun terhadap kanker, sel T CD4 telah terbukti mengatur dan mengoordinasikan banyak aspek respons imun bawaan dan adaptif untuk memastikan respons optimal oleh limfosit lain. Sel T CD4 merupakan elemen yang diperlukan untuk membentuk sel T CD8 spesifik tumor, mempengaruhi diferensiasi dan perluasan spesifik antigen tumor dan sangat penting untuk menghasilkan dan mempertahankan respons sel T memori

CD8 jangka panjang (Chatzileontiadou *et al.*, 2020). Sel T sitotoksik yang mengekspresikan CD8 permukaan sel adalah efektor yang paling kuat dalam respons imun antikanker dan menjadi tulang punggung imunoterapi kanker saat ini dengan memblokir reseptor imun supresif dan merevitalisasi sel T yang tidak berfungsi, termasuk sel T CD8⁺, dan transfer sel adopsi menggunakan sel T CD8⁺ dengan reseptor yang dimodifikasi secara genetik. Sel NK merupakan sistem kekebalan tubuh bawaan yang ketika diaktifkan, sel NK akan menyerang berbagai jenis patogen, termasuk bakteri, parasit, jamur, dan sel kanker. Sistem komplemen dari sistem kekebalan bawaan berkontribusi dalam menghilangkan patogen dengan membentuk *membrane attack complex* (MAC), membantu sel sistem kekebalan tubuh lain untuk mengaktifkan dan mengenali patogen dengan lebih mudah. Sel T CD8, CD4 dan sel-sel pembunuh alami (NK sel) yang mengekspresikan CD57 menandakan terjadinya terminal diferensiasi dan ketidakmampuannya untuk membunuh sel yang terinfeksi sehingga dengan meningkatnya CD57 tersebut menunjukkan adanya immunosupresi (Phetsouphanh *et al.*, 2015). Sehingga, CD57 dapat digunakan sebagai penanda untuk mengukur fungsional defisiensi imun pada pasien

dengan penyakit autoimun, penyakit menular, dan kanker.

Beberapa lobus hati terdiri dari hepatosit dan kolangiosit, serta sel non-parenkim seperti sel endotel, sel pit (sel pembunuh alami hati tertentu), sel stelata (sel Ito), sel stromal, sel Kupffer (makrofag perisinusoid), dan sel stelata (sel Ito). Fungsi sel Kupffer adalah melindungi hati dari antigen atau bakteri patogen yang masuk melalui saluran cerna dan memicu respons imun immunogenik dan *tolerogenic* (Safithri, 2018). Maka dari itu dilakukan pengamatan CD57 pada hati tikus dengan metode imunohistokimia yang sering digunakan untuk mengidentifikasi adanya antigen pada jaringan sebagai akibat dari bagaimana antibodi bertindak terhadap antigen jaringan. Untuk mengetahui tingkat proliferasi dan apoptosis sel, pemeriksaan imunohistokimia sangat berguna (I Made Agus Setiawan, 2023). Dalam penelitian ini, digunakan metode pengecatan tidak langsung dengan antibodi primer (tidak berlabel) dan antibodi sekunder (berlabel). Antibodi primer CD57 terikat pada antigen, dan setelah ikatan antara antigen dan jaringan hati hewan percobaan dengan antibodi primer (CD57), antibodi sekunder (berlabel) ditambahkan untuk berikatan dengan antibodi primer (CD57). Sel yang terekspresi positif CD57 ditandai dengan

warna ungu yang lebih intensif setelah pengecatan imunohistokimia, sedangkan sel yang tidak mengekspresikan CD57 berwarna ungu muda. Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop cahaya yang dibantu dengan optilab dengan perbesaran 40x dan dilakukan pada 5 bidang pandang. Hasil pengamatan ekspresi CD57 dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan :

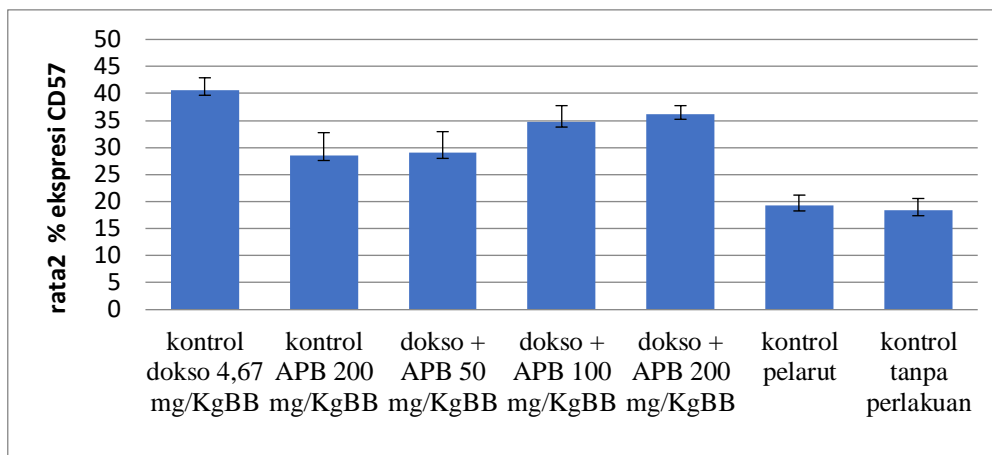
→ = ekspresi positif

→ = ekspresi negatif

Gambar 1. Foto mikroskopis hasil uji imunohistokimia kelompok doksorubisin + EEAPB 100 mg/KgBB

B. Analisis Hasil Pengaruh Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi pada Ekspresi CD57

Rata-rata persen ekspresi CD57 dibandingkan dengan antar kelompok yang ada. Hasil rata-rata \pm SD % ekspresi CD57 disetiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 1 dan diagram batang persentase ekspresi CD57 antar kelompok pada Gambar 2.



Keterangan : Kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan kelompok kontrol doksorubisin, menunjukkan bahwa EEAPB dapat mengurangi tingkat ekspresi CD57 yang meningkat yang disebabkan oleh doksorubisin.

Gambar 2. Diagram batang % ekspresi CD57 pada masing-masing kelompok hewan uji oleh EEAPB pada hepar tikus galur SD yang diberi doksorubisin.

Tabel I. Rata-rata persen ekspresi CD57 pada masing-masing kelompok hewan uji oleh pengaruh EEAPB pada hepar tikus galur SD

Kelompok	Rata-rata % ekspresi CD57 (Mean±SD)
• Kontrol doksorubisin	40,68±2,23
• Kontrol ekstrak	28,60±4,15
• Dokso + EEAPB 50 mg/KgBB	28,99±3,95
• Dokso + EEAPB 100 mg/KgBB	34,79±2,96
• Dokso + EEAPB 200mg/KgBB	36,23±1,53
• Kontrol pelarut	19,26±1,94
• Kontrol sehat	18,38±2,19

Data yang diperoleh yaitu berupa % ekspresi CD57 yang kemudian diolah dengan analisis statistik SPSS dengan taraf kepercayaan 95%. Pertama-tama, data % ekspresi CD57 dari setiap kelompok diuji normalitasnya menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov* dengan hasil P lebih dari 0,05 yang menunjukkan data terdistribusi normal. Selain diuji normalitas, juga diuji *Levene* untuk homogenitas data yang didapatkan $P < 0,05$

maka % ekspresi CD57 tidak homogen. Karena data % ekspresi CD57 yang terdistribusi normal dan tidak homogen, dilakukan analisis statistik non parametrik. Data setiap kelompok diuji dengan uji *Kruskal Wallis* dengan hasil $P < 0,05$ menunjukkan bahwa ekspresi CD57 dalam setiap kelompok berbeda secara signifikan. Dilanjutkan uji ada tidaknya perbedaan antar dua kelompok perlakuan dengan uji *Mann Whitney*.

Kelompok kontrol pelarut tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol sehat, yang menunjukkan bahwa pelarut CMC Na 1% tidak mempengaruhi ekspresi CD57, seperti yang ditunjukkan oleh Tabel 1 dan hasil analisis statistik. Kelompok kontrol doksorubisin berbeda signifikan dengan kontrol sehat sehingga menunjukkan bahwa doksorubisin dapat meningkatkan ekspresi CD57. Ekspresi CD57 kelompok kontrol EEAPB lebih tinggi dari kontrol sehat. Hal ini diduga disebabkan karena salah satu EEAPB yang dapat meningkatkan jumlah sel NK (Muhamad *et al.*, 2015) yang mana dapat meningkatkan ekspresi CD57.

Kontrol doksorubisin menunjukkan % ekspresi CD57 tertinggi dibandingkan dengan kelompok lain sehingga membuktikan bahwa pemberian doksorubisin dapat menyebabkan penekanan sistem imun pada tikus sehat. Karena dengan tingginya ekspresi CD57 menunjukkan banyaknya sel T CD4+, CD8+, dan sel NK yang mengalami deferensiasi terminal sehingga sel tak mampu lagi berproliferasi dan berdiferensiasi untuk membunuh sel yang terinfeksi (disfungsi limfosit) dan kemudian akan mati oleh apoptosis. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh salah satu efek dari doksorubisin yang dapat menurunkan fungsi sistem imun dengan menurunkan proliferasi limfosit, *sel natural*

killer (NK), serta rasio CD4+/CD8+ (Zhang *et al.*, 2010).

Seluruh kelompok kombinasi perlakuan yaitu kelompok doksorubisin + EEAPB 50 mg/KgBB, 100 mg/KgBB dan EEAPB 200 mg/ berbeda secara signifikan dengan kontrol doksorubisin nilai nya $P < 0,05$. Pada semua kelompok perlakuan % ekspresi CD57 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol doksorubisin. Hal ini membuktikan bahwa EEAPB dapat menurunkan % ekspresi dari CD57 yang meningkat dengan adanya efek immunosupresan doksorubisin. Maka EEAPB terbukti dapat meningkatkan kembali sistem imun yang telah ditekan oleh doksorubisin. Hasil uji ini sesuai dengan hasil uji yang dilakukan pada kombinasi ekstrak akar pasak bumi dan doksorubisin yang mana mempunyai efek antagonis terhadap sel limfosit normal, fraksi etil asetat ekstrak akar pasak bumi dapat menurunkan efek toksik doksorubisin pada sel limfosit (Nurani *et al.*, 2015).

Kelompok perlakuan doksorubisin dan APB 50 mg/KgBB menunjukkan % ekspresi CD57 yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan doksorubisin + EEAPB 100 mg/KgBB dan doksorubisin + AEEAPB 200 mg/KgBB. Jadi, dosis 50mg/KgBB merupakan dosis yang paling efektif menurunkan ekspresi CD57. Hal ini dapat disebabkan karena EEAPB 200mg/KgBB dapat mengurangi

ekspresi Gen Harvey Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog (HRAS) pada hepar tikus sehat yang diberi doksorubisin. Aktivitas RAS yang dihambat menunjukkan adanya aktivasi respon apoptosis (Noval & Raihana, 2019).

IV. KESIMPULAN

EEAPB dapat menurunkan % ekspresi CD57 pada hepar tikus galur *Sprague Dawley* yang telah diinduksi doksorubisin secara signifikan. Dan dosis yang dapat menurunkan % ekspresi CD57 terbesar adalah 50 mg/KgBB.

KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak memiliki kepentingan yang bertentangan dalam penelitian ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada tim Laboratorium Biologi farmasi dan farmakologi UAD yang telah memfasilitasi sarana dan prasarana pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agnello, L., d'Argenio, A., Nilo, R., Fedele, M., Camorani, S., & Cerchia, L. (2023). Aptamer-Based Strategies to Boost Immunotherapy in TNBC. In *Cancers* (Vol. 15, Issue 7). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cancers15072010>
- Al Aradi, A., Al Rashed, A. A., Mubarak, M., Hasan, O., Al Arayedh, A., Isa, Q. M., & Alaradi, H. (2022). Renal Carcinoma Patterns and Prevalence in Bahrain: A Descriptive Study. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.31443>
- Anwar, K., Istiqamah, F., & Hadi, S. (2021). Optimasi Suhu dan Waktu Ekstraksi Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* jack.) Menggunakan Metode RSM (response surface methodology) dengan Pelarut Etanol 70%. *Jurnal Pharmascience*, 8(1), 53. <https://doi.org/10.20527/jps.v8i1.9085>
- Chatzileontiadou, D. S. M., Sloane, H., Nguyen, A. T., Gras, S., & Grant, E. J. (2020). *Molecular Sciences The Many Faces of CD4 + T Cells: Immunological and Structural Characteristics*. <https://doi.org/10.3390/ijms>
- Christowitz, C., Davis, T., Isaacs, A., Van Niekerk, G., Hattingh, S., & Engelbrecht, A. M. (2019). Mechanisms of doxorubicin-induced drug resistance and drug resistant tumour growth in a murine breast tumour model. *BMC Cancer*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5939-z>
- Chung, H. K., Kim, J. T., Kim, H. W., Kwon, M., Kim, S. Y., Shong, M., Kim, K. S., & Yi, H. S. (2017). GDF15 deficiency exacerbates chronic alcohol- and carbon tetrachloride-induced liver injury. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17574-w>
- De Guzman, R., & Malik, M. (2019). Global Cancer Burden and Natural Disasters: A Focus on Asia's Vulnerability, Resilience Building, and Impact on Cancer Care. In *J Global Oncol*.
- Garg, S., Sharma, N., Bharmjeet, & Das, A. (2023). Unraveling the intricate relationship: Influence of microbiome on the host immune

- system in carcinogenesis. In *Cancer Reports* (Vol. 6, Issue 11). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/cnr2.1892>
- Guyonnet, J. P., Cantarel, A. A. M., Simon, L., & Haichar, F. Z. (2018). Root exudation rate as functional trait involved in plant nutrient-use strategy classification. *International Journal of Business Innovation and Research*, 17(3), 8573–8581. <https://doi.org/10.1002/ece3.4383>
- Hassouneh, F., Lopez-Sejas, N., Campos, C., Sanchez-Correa, B., Tarazona, R., Solana, R., & Pera, A. (2017). Differential effect of cytomegalovirus infection with age on the expression of CD57, CD300a, and CD161 on T-Cell subpopulations. *Frontiers in Immunology*, 8(JUN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00649>
- He, Q., Wang, F., Ryan, T. D., Chalasani, M., & Redington, A. N. (2020). Repeated Remote Ischemic Conditioning Reduces Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity. *JACC: CardioOncology*, 2(1), 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2020.01.005>
- Hosseini, A., & Sahebkar, A. (2017). Reversal of doxorubicin-induced cardiotoxicity by using phytotherapy: A review. *Journal of Pharmacopuncture*, 20(4), 243–256. <https://doi.org/10.3831/KPI.2017.20.030>
- Iwata, T., Miyauchi, A., Suga, Y., Nishio, H., Nakamura, M., Ohno, A., Hirao, N., Morisada, T., Tanaka, K., Ueyama, H., Watari, H., & Aoki, D. (2016). Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer. In *Chinese Journal of Cancer Research*, 28(2), 235–240. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2016.02.13>
- Jaigirdar, S. A., & MacLeod, M. K. L. (2015). Development and function of protective and pathologic memory CD4 T cells. In *Frontiers in Immunology*, 6(SEP). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00456>
- John, S., Joseph, A. P., Raghavan Pillai, V. B., Ramani, P., P, J., & Ramalingam, K. (2024). Evaluation of Cytotoxic T Lymphocytes and Natural Killer Cell Distribution in Oral Squamous Cell Carcinoma and Oral Epithelial Dysplasia: An Immunohistochemical Study. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.56323>
- Muhamad, A. S., Ooi, F. K., & Chen, C. K. (2015). Effects of *Eurycoma longifolia* on Natural Killer Cells and Endurance Running Performance. *International Journal of Sports Science*, 5(3), 93–98. <https://doi.org/10.5923/j.sports.20150503.01>
- Nie, J., Zhao, C., Deng, L., Chen, J., Yu, B., Wu, X., Pang, P., & Chen, X. (2016). Efficacy of traditional Chinese medicine in treating cancer (Review). *Biomedical Reports*, 4(1), 3–14. <https://doi.org/10.3892/br.2015.537>
- Noval, & Raihana. (2019). Efek ekstrak etanol akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia*, jack) pada pemberian doxorubicin effects of pasak bumi roots (*Eurycoma longifolia* Jack.) extracts ethanol on the expression of hras in heart organs of galur mice. *Jurnal Surya Medika*, 5(1).
- Nurani, L. H., Widayarni, S., & Mursyidi, A. (2015). Uji Sitotoksik dan Uji Kombinasi Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack.) dan Doksorubisin pada Sel Limfosit. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 3(2), 138–147. <https://doi.org/10.25026/jtpc.v3i2.100>

- Phetsouphanh, C., Xu, Y., & Zaunders, J. (2015). CD4 T cells mediate both positive and negative regulation of the immune response to HIV infection: Complex role of T follicular helper cells and regulatory T cells in pathogenesis. *Frontiers in Immunology*, 6(JAN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00681>
- Safithri, F. (2018). Mekanisme Regenerasi Hati secara Endogen pada Fibrosis Hati. *MAGNA MEDIKA: Berkala Ilmiah Kedokteran*, 2(4), 9–26.
- Setiawan, I. M. A. (2023). Peran Pemeriksaan Imunohistokimia dalam Diagnosis dan Prognosis Kanker Payudara. *Cermin Dunia Kedokteran*, 50(8), 443–446. <https://doi.org/10.55175/cdk.v50i8.667>
- Simonetta, F., Hua, S., Lécuroux, C., Gérard, S., Boufassa, F., Sáez-Ciri3n, A., Pancino, G., Goujard, C., Lambotte, O., Venet, A., & Bourgeois, C. (2014). High Eomesodermin Expression among CD57 + CD8 + T Cells Identifies a CD8 + T Cell Subset Associated with Viral Control during Chronic Human Immunodeficiency Virus Infection. *Journal of Virology*, 88(20), 11861–11871. <https://doi.org/10.1128/jvi.02013-14>
- Yao, D., Xu, L., Liu, L., Zeng, X., Zhong, J., Lai, J., Zheng, R., Jin, Z., Chen, S., Zha, X., Huang, X., & Lu, Y. (2020). Increased Expression of TIGIT/CD57 in Peripheral Blood/Bone Marrow NK Cells in Patients with Chronic Myeloid Leukemia. *BioMed Research International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9531549>
- Zhang, X.-Y., Li, W.-G., Wu, Y.-J., & Gao, M.-T. (2010). Amelioration of doxorubicin-induced myocardial oxidative stress and immunosuppression by grape seed proanthocyanidins in tumour-bearing mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(8), 1043–1051. <https://doi.org/10.1211/0022357056523>
- Zhao, C., Wu, X., Chen, J., & Qian, G. (2022). The therapeutic effect of IL-21 combined with IFN- γ inducing CD4+CXCR5+CD57+T cells differentiation on hepatocellular carcinoma. *Journal of Advanced Research*, 36, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.05.010>