

Aktivitas Antikarsinogenesis Ekstrak Etanol Daging Buah Mahkota Dewa pada Mencit yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasena

YANDI SYUKRI*, SAEPUKIN

Program Studi Farmasi FMIPA Universitas Islam Indonesia

Diterima 30 April 2008, Disetujui 1 September 2008

Abstract: Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) was used empirically for treatment of any kind of diseases, including cancer. The aim of this research is to explore the carcinogenesis inhibition effect of mahkota dewa epicarp extract. The effect was examined using 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) induced new born mice which were divided into five groups. All groups received 0.25 mg single intraperitoneal injection of DMBA, except group of normal control. The extract was tested onto three different groups of the mice at the age of 28 days which was separated from their parental with the doses of 6.25 mg, 12.5 mg, and 25 mg for 16 weeks and one group was used as negative control. Anticarcinogenic effect of the extract was evaluated after 16 weeks by observing the histopathology and total number of all types of neoplasm in hepar, kidney, lung, gastric, intestine, and lymphatic tissue. The result showed that the extract at 6.25 mg, 12.5 mg, and 25 mg decreases carcinogenesis event by 50%, 83%, and 100% , respectively, compared with negative control. In conclusion, the dose of 25 mg extract improved several organs carcinogenesis than other dose, and thereby can be developed as a potential anticancer agent.

Key words: Mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa*, DMBA, carcinogenesis.

PENDAHULUAN

DI BEBERAPA bagian dunia, dalam waktu singkat kanker telah menyebabkan kematian yang cukup tinggi pada populasi penduduk. Kematian akibat penyakit kanker di Amerika Serikat mencapai 22%, berada di urutan kedua setelah penyakit kardiovaskular (37%)⁽¹⁾. Di Indonesia, kanker menempati peringkat keenam penyebab kematian setelah penyakit infeksi, kardiovaskular, kecelakaan lalu lintas, defisiensi nutrisi, dan penyakit kongenital. Diperkirakan ada 170-190 kasus baru pada setiap 100.000 penduduk tiap tahun⁽²⁾.

Pengobatan kanker yang aman dan efektif masih belum ditemukan⁽³⁾. Dengan demikian, usaha untuk menemukan obat kanker perlu terus dilakukan untuk mendapatkan obat yang efektif dengan efek samping yang kecil. Salah satu usaha yang perlu ditempuh adalah dengan menggali sumber alam nabati yang secara empiris telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati kanker.

Tanaman mahkota dewa secara empiris di masyarakat telah digunakan untuk mengobati kanker. Tanaman ini mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan polifenol yang kemungkinan berperan terhadap efek farmakologinya⁽⁴⁾. Penelitian tentang mahkota dewa yang telah dilakukan membuktikan bahwa tanaman ini sangat potensial untuk dikembangkan sebagai sumber material obat anti kanker. Uji toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach. dengan metode BSLT ataupun terhadap *cancer cell line* pada leukemia menunjukkan adanya potensi toksisitas dan penghambatan terhadap tumbuhnya sel kanker^(5,6). Mekanisme penghambatan mahkota dewa belum diketahui dengan pasti, tetapi penelitian dengan metode *chorio alantoic membrane* (CAM) yang terinduksi bFGF memperlihatkan adanya efek penghambatan angiogenesis/pembentukan pembuluh darah baru pada tumor yang terbentuk⁽⁷⁾.

Berbagai hasil penelitian secara *in vitro* dan *in situ* di atas cukup memberikan gambaran efek farmakologis dari buah mahkota dewa. Karena itulah perlu dikembangkan penelitian untuk melihat aktivitasnya secara *in vivo* untuk memberikan gambaran efek menyeluruh pada model hewan uji.

* Penulis korespondensi, Hp. 08158087200
e-mail: yandisyukri@fmipa.uii.ac.id

Dalam rangka mengembangkannya menjadi obat herbal terstandar, berbagai penelitian untuk menjamin kualitas, keamanan, dan aktivitas farmakologis buah mahkota dewa sangat penting untuk dilakukan. Hasil dari penelitian-penelitian tersebut sangat bermanfaat dalam rangka mengembangkan tanaman khas Indonesia sebagai obat herbal yang setara dengan obat modern dan pada akhirnya dapat diaplikasikan pada pelayanan kesehatan formal.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memperoleh informasi tentang potensi efek antikanker ekstrak buah mahkota dewa, serta dosis ekstrak yang optimal memberikan efek antikanker. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan ekstrak buah mahkota dewa sebagai obat herbal terstandar.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Buah mahkota dewa yang diperoleh dari Perkebunan Tanaman Obat Merapi Farma, Kaliurang Yogyakarta, etanol *p.a.*, akuades, plat silika gel (F₂₅₄), mencit (galur Swiss), 7,12-dimetilbenz(a) antrasena (DMBA). Peralatan yang digunakan adalah perkolator, *rotary evaporator* (Buchi), *TLC scanner* (Camag), *moisture balance* (Metler Toledo).

METODE. Penelitian dilakukan dalam beberapa tahapan yang meliputi: ekstraksi kandungan senyawa aktif dari tanaman, standarisasi ekstrak daging buah mahkota dewa, serta uji preklinis yang meliputi uji antikarsinogenik dan penilaian efek karsinogenesis secara *in vivo*.

Ekstraksi dilakukan dengan cara perkolasi menggunakan etanol 70%⁽⁸⁾. Ekstrak yang diperoleh diuji parameter standar menurut metode standarisasi ekstrak Badan POM sebagai persiapan untuk sediaan herbal meliputi: parameter identitas ekstrak, parameter organoleptik, parameter senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, parameter pola kromatogram, parameter total golongan kandungan kimia.

Induksi karsinogenesis dilakukan dengan menggunakan dimetilbenz(a)antrasena (DMBA) dengan metode *newborn mice*^(9,10) yang telah dibuktikan sebagai metode uji karsinogenesis yang terbaik dan paling sensitif. Mencit-mencit yang baru lahir (umur kurang dari 24 jam) disuntik dengan DMBA sebanyak 0,25 mg di dalam pelarut minyak wijen dengan kadar 0,5% secara intraperitoneal. Pada umur 21 hari, mencit disapih dari induknya dan seminggu kemudian dibagi ke dalam beberapa kelompok untuk mendapatkan perlakuan sediaan ekstrak daging buah mahkota dewa secara oral. Pengelompokan hewan uji dilakukan seperti disajikan pada Tabel 1.

Pengamatan terhadap adanya kejadian tumor dilakukan secara mikroskopik dengan membuat preparat dari organ yang diambil dan dilakukan pengamatan secara histopatologi untuk melihat adanya pembentukan tumor pada organ tersebut. Pada umur 16 minggu diambil paru, limfa, hati, lambung, usus, dan ginjal untuk diamati ada tidaknya tumor. Sejumlah organ yang dianggap mewakili keadaan patologis diperiksa secara anatomi-patologis.

Tabel 1. Pembagian kelompok hewan uji.

Kelompok	Keterangan perlakuan	Jumlah mencit
I	Hanya diberi air suling sampai akhir masa penelitian	12
II	Diinduksi dengan DMBA tanpa pemberian ekstrak bahan uji	12
III	Diinduksi dengan DMBA dan diberi ekstrak dengan dosis setara 50 mg serbuk (6,25 mg ekstrak)	12
IV	Diinduksi dengan DMBA dan diberi ekstrak dengan dosis setara 100 mg serbuk (12,5 mg ekstrak)	12
V	Diinduksi dengan DMBA dan diberi ekstrak dengan dosis setara 200 mg serbuk (25 mg ekstrak)	12

Intensitas karsinogenesis dinyatakan sebagai jumlah mencit yang terkena tumor di dalam setiap kelompok dan jumlah tumor per mencit di dalam setiap organ. Pemeriksaan tumor dilakukan pada mencit yang berumur 4 bulan. Pada umur tersebut mencit dibunuh dan diambil limfa, hati, paru, dan ginjalnya untuk diamati adanya pembentukan tumor.

Intensitas karsinogenesis dinyatakan sebagai persentase mencit yang menderita tumor pada tiap kelompok serta banyaknya organ yang mengalami tumor pada setiap mencit di dalam setiap kelompok. Data yang diperoleh dibandingkan antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol normal, dan kelompok perlakuan ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil ekstraksi serbuk daging buah mahkota dewa sebanyak 500 mg, diperoleh ekstrak kental sebanyak 62,6 g. Dengan demikian, rendemen ekstrak yang diperoleh adalah sebesar 12,52%. Karakteristik organoleptis ekstrak kental yang diperoleh adalah berbentuk kental seperti pasta, warna coklat, berasa pahit, dengan bau aromatik khas.

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dalam ekstrak, yang dilakukan dengan KLT menggunakan fase diam silika gel F_{254} dan fase gerak BAW (4:1:5) menunjukkan adanya 5 bercak kromatogram dengan karakteristik bercak seperti

disajikan pada Tabel 2. Dari hasil pemeriksaan dengan spektrofotometer, diketahui bahwa bercak nomor 3 dan 5 positif mengandung flavonoid. Kesimpulan ini didasarkan atas gambaran spektra khas yang dihasilkan oleh masing-masing bercak, yaitu adanya dua puncak pada panjang gelombang 200-400 nm yang muncul karena adanya gugus sinamoil dan benzoil pada struktur kimia flavonoid, dan pola spektra tersebut juga menunjukkan perubahan yang khas pada pemeriksaan dengan menggunakan beberapa pelarut khas untuk identifikasi flavonoid.

Uji antikarsinogenisitas dilakukan dengan melakukan pengamatan pada preparat jaringan berbagai organ. Organ yang diamati meliputi hati,

Tabel 2. Nilai Rf dan warna bercak hasil pemisahan dengan fase diam silika gel F_{254} dan fase gerak BAW (4:1:5) dengan pengamatan dibawah sinar UV 254 nm.

Bercak nomor	Nilai Rf	Warna bercak
1	0,09	Putih
2	0,22	Putih
3	0,49	Putih
4	0,74	Kuning
5	0,83	Ungu

limfa, paru-paru, lambung, usus, serta ginjal. Preparat dibuat dengan jalan mengambil sedikit bagian jaringan dari tiap-tiap organ. Selain pengamatan secara histopatologi, dilakukan juga pengamatan terhadap parameter pendukung berupa jumlah hewan uji yang mati untuk tiap kelompok, serta berat badan hewan uji.

Tabel 3. Jumlah hewan uji yang mati selama masa penelitian.

Kelompok	Jumlah hewan uji yang mati
I	0
II	3
III	2
IV	0
V	0

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa hewan uji yang berat badannya lebih rendah dari hewan uji yang ada pada kelompok kontrol normal adalah hewan uji pada kelompok kontrol negatif yang hanya mendapatkan perlakuan induksi DMBA. Adapun hewan uji pada kelompok yang diberi ekstrak etanol daging buah mahkota dewa menunjukkan berat

badan yang tidak berbeda bermakna dengan berat badan hewan uji pada kelompok kontrol normal. Sampai saat ini, belum ada teori yang secara pasti menjelaskan hubungan antara kejadian kanker dengan penurunan berat badan. Namun demikian, kejadian kanker pada manusia biasanya diikuti dengan masalah penurunan nafsu makan sehingga menyebabkan penurunan berat badan.

Tabel 4. Berat badan hewan uji pada minggu ke-14 sebelum dilakukan pembedahan.

Kelompok	Jumlah hewan uji	Berat badan (rata-rata \pm SD)
I	8	35,2 \pm 2,3
II	10	27,3 \pm 3,3
III	12	33,4 \pm 2,7
IV	12	30,4 \pm 1,4
V	12	34,3 \pm 2,8

Dari data pada Tabel 4 terlihat bahwa semua hewan uji pada kelompok I tidak menunjukkan adanya tumor pada berbagai organ yang diperiksa. Sebaliknya, pada kelompok II, semua hewan uji positif menunjukkan adanya tumor. DMBA

merupakan karsinogen yang cukup poten pada hewan pengerat, dan secara luas telah digunakan untuk menginduksi terjadinya kanker⁽¹¹⁾.

Pada hewan uji yang mendapatkan perlakuan ekstrak etanol daging buah mahkota dewa, angka kejadian tumor yang paling tinggi ditemukan pada kelompok hewan uji yang mendapatkan perlakuan

ekstrak dengan dosis setara dengan 50 mg (50%). Secara berurutan, angka kejadian tumor menurun pada kelompok hewan uji yang diberi ekstrak dengan dosis yang lebih tinggi. Pengamatan kejadian tumor pada setiap organ berdasarkan hasil pemeriksaan secara histopatologi menunjukkan angka kejadian tumor pada berbagai organ yang diperiksa untuk setiap kelompok disajikan pada Tabel 5.

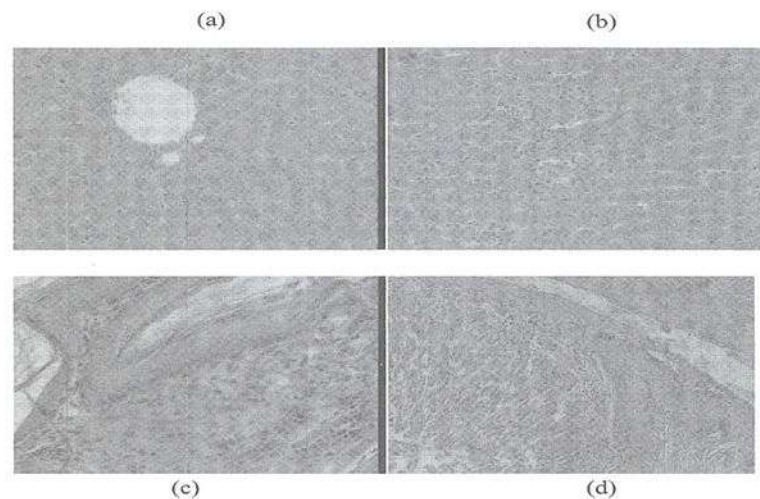
Data pada Tabel 6 menunjukkan bahwa kejadian tumor yang ditemukan paling banyak adalah pada organ hati dan paru-paru, serta berikutnya dalam jumlah yang lebih sedikit ditemukan pada organ limfa dan lambung. Studi sebelumnya menemukan bahwa kejadian tumor yang paling banyak ditemukan pada hewan uji yang diinduksi dengan DMBA adalah pada organ paru-paru dan kulit⁽¹²⁾. Paru-paru sendiri merupakan organ yang mudah diserang oleh karsinogen dan sering pula menjadi tempat metastase kanker. Contoh gambaran histopatologi organ pada berbagai kelompok disajikan pada Gambar 3.

Tabel 5. Jumlah hewan uji yang mengalami tumor setelah dilakukan pembedahan.

Kelompok	Hewan uji yang mengalami tumor	
	Jumlah	%
I	0	0
II	9	100
III	5	50
IV	2	16,7
V	0	0

Tabel 6. Angka kejadian tumor pada berbagai organ yang diperiksa untuk setiap kelompok.

Kelompok	Angka kejadian tumor berdasarkan organ					
	Hati	Ginjal	Limfa	Paru-paru	Lambung	Usus
I	0	0	0	0	0	0
II	9	0	4	9	5	0
III	5	0	5	5	2	0
IV	2	0	1	2	2	0
V	0	0	0	0	0	0



Gambar 3. Histopatologi jaringan hati dan paru-paru.
 (a) jaringan hati normal; (b) jaringan hati dengan adanya tumor; (c) jaringan paru-paru normal; (d) jaringan paru dengan adanya tumor.

Berdasarkan hasil pemeriksaan histopatologi yang dilakukan, dapat diketahui gambaran perubahan jaringan pada berbagai organ yang diperiksa untuk setiap kelompok. Gambaran histopatologi pada kelompok VI hampir sama dengan gambaran histopatologi kelompok I, yaitu menunjukkan gambaran jaringan normal tanpa adanya tumor. Contoh gambaran histologi jaringan hati yang ditampilkan pada Gambar 3 adalah jaringan hati pada kelompok I (normal) dan dibandingkan dengan jaringan hati pada kelompok II yang menunjukkan adanya kelainan pada sel-sel jaringan tersebut. Dari keseluruhan hasil uji antikarsinogenesis dapat diketahui, bahwa ekstrak etanol daging buah mahkota dewa memiliki potensi untuk digunakan sebagai antikanker. Berdasarkan dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini, dosis yang paling efektif yang memberikan efek antikarsinogenik paling tinggi adalah pada kadar ekstrak 25 mg dengan dosis ekstrak yang setara dengan 200 mg serbuk daging buah mahkota dewa.

SIMPULAN

Ekstrak etanol daging buah mahkota dewa memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat antikanker dan dosis yang diketahui paling efektif berdasarkan hasil penelitian ini adalah kadar ekstrak 25 mg dengan dosis ekstrak yang setara dengan 200 mg serbuk daging buah mahkota dewa.

DAFTAR PUSTAKA

- King RJB. Cancer biology. 2nd ed. London: Pearson Education Limited; 2000.
- Tjindarbumi D, Mangunkusumo R. Cancer in Indonesia, present and future. Jpn Clin Oncol. 2002. (1):10-15.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Roberts K, Watson JD. Molecular biology of the cell. 3rd ed. New York and London: Garland Publ Inc; 1994.p.1255-83.
- Mahendra B. 13 Jenis tanaman obat ampuh. Jakarta: Penebar Swadaya; 2005. hal.67.
- Puspaningsih DD, Soegihardjo CJ. Uji toksisitas akut buah matang mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) terhadap larva *Artemia salina* Leach. beserta profil kromatografi fraksi paling aktif [skripsi]. Yogyakarta: Prodi Farmasi UII; 2003.
- Sukemti, Soegihardjo CJ. Uji toksisitas akut buah mentah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) terhadap larva *Artemia salina* Leach. beserta profil kromatografi fraksi paling aktif [skripsi]. Yogyakarta: Prodi Farmasi UII; 2004.
- Triastuti A. Efek antiangiogenik ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* Boerl.) pada membran korio alantois (CAM) embrio ayam yang terinduksi bFGF [Laporan Penelitian]. Yogyakarta: Prodi Farmasi UII; 2006.
- Departemen Kesehatan RI. Farmakope Indonesia. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI; 1995.
- Della PG, Terracini B. Chemical carcinogenesis in infant animals. Prog Exp Tumor Res. 1969. (11):334.
- Toth B. A critical review of experiments in chemical carcinogenesis using newborn animals. Cancer Res. 1968.(28):727.
- Constantinou AI, Mehta R, Husband A, Phenoxodiol. A novel isoflavone derivative, inhibits 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA)-induced mammary carcinogenesis in female Sprague-Dawley Rats. European Journal of Cancer. 2003. (39):1012-18.
- Mun'im A, Andrajati R, Susilowati H. Uji hambatan tumorigenesis sari buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.) terhadap tikus putih betina yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasen. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2006.(3):153-61.