

## The Effect of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl. Fruit Against 7,12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA)-Induced Lung Histopathology Appearance in Rat

Lauretta M, Muhartono, Wahyuni A

Medical Faculty of Lampung University

### Abstract

*Phaleria macrocarpa* fruit has been studied that it contains of high concentrate of flavonoids as natural antioxidant that inhibit the formation of free radicals. The aim of this research is to determine the influence of giving ethanol extract of *Phaleria macrocarpa* fruits against 7,12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA)-induced lung histopathology appearance in rat. In this study, 25 female rats were divided randomly into 5 groups then adapted for 7 days and given treatment for 15 days. K1 (normal control was only given aquadest), K2 (positive control was only given DMBA 30 mg/kgBW), K3 (given DMBA 30 mg/kgBW and extract of *Phaleria macrocarpa* fruits 120 mg/kgBW), K4 (given DMBA 30 mg/kgBW and extract of *Phaleria macrocarpa* fruits 240 mg/kgBW) and K5 (given DMBA 30 mg/kgBW and extract of *Phaleria macrocarpa* fruits 480 mg/kgBW). Results showed that the total average of pulmonary alveolar inflammatory cell infiltration in K1:  $6,60 \pm 1,140$ ; K2:  $13,80 \pm 0,837$ ; K3:  $12,20 \pm 0,837$ ; K4:  $10,80 \pm 0,837$ ; and K5:  $9,40 \pm 1,140$  (decreasing in comparison with K2). The conclusion of this research is that extract of *Phaleria macrocarpa* fruits can decrease total of pulmonary alveolar inflammatory cell infiltration on DMBA-induced lung in rat.

**Keywords:** DMBA, inflammatory cell, lung histopathology appearance, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.

### Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Mahkota Dewa Terhadap Gambaran Histopatologi Paru Tikus Putih yang Diinduksi 7,12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA)

#### Abstrak

Mahkota dewa telah diteliti memiliki kandungan *flavonoid* yang tinggi sebagai antioksidan alami yang menghambat pembentukan radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa terhadap gambaran histopatologi paru tikus putih yang diinduksi 7,12-Dimethylbenz[ $\alpha$ ]anthracene (DMBA). Pada penelitian ini 25 tikus betina dibagi dalam 5 kelompok dan diadaptasi selama 7 hari kemudian diberi perlakuan selama 15 hari. K1, kontrol normal yang hanya diberi aquades; K2, kontrol positif yang hanya diberi DMBA 30 mg/kgBB; K3, diberi DMBA 30 mg/kgBB dan ekstrak buah mahkota dewa 120 mg/kgBB; K4, diberi DMBA 30 mg/kgBB dan ekstrak mahkota dewa 240 mg/kgBB; dan K5, diberi DMBA 30 mg/kgBB dan ekstrak mahkota dewa 480 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata jumlah infiltrasi sel radang alveolus paru K1:  $6,60 \pm 1,140$ ; K2:  $13,80 \pm 0,837$ ; K3:  $12,20 \pm 0,837$ ; K4:  $10,80 \pm 0,837$ ; dan K5:  $9,40 \pm 1,140$ . K3, K4, dan K5 mengalami penurunan signifikan jika dibandingkan dengan K2. Simpulan, ekstrak buah mahkota dewa dapat menurunkan jumlah infiltrasi sel radang alveolus paru tikus putih yang diinduksi oleh DMBA.

**Kata kunci:** DMBA, gambaran histopatologi paru, mahkota dewa, sel radang.

## Pendahuluan

Kanker paru merupakan salah satu jenis kanker yang mempunyai tingkat insidensi yang tinggi di dunia, sebanyak 17% insidensi terjadi pada pria (peringkat kedua setelah kanker prostat) dan 19% pada wanita (peringkat ketiga setelah kanker payudara dan kanker kolorektal) (Ancuceanu & Victoria, 2004).

Merokok adalah penyebab utama terjadinya kanker paru pada 80-90% kasus kanker paru (Kopper & Timar, 2005). Asap rokok yang terhisap dalam tubuh mengandung radikal bebas dan merupakan beban oksidan yang berlebihan ini akan menyebabkan timbulnya stres oksidatif (Kirkham *et al.*, 2005). Stres oksidatif adalah kondisi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan. Partikel, zat kimia dan gas bersifat reaktif beserta radikal bebas yang terdapat dalam rokok tersebut akan menyebabkan beban oksidan yang sangat berlebihan terhadap paru (Stevenson *et al.*, 2005).

Salah satu contoh senyawa yang merupakan radikal bebas yang sangat reaktif adalah senyawa 7,12-dimetilbenz(a)antracene (Droge, 2002). Senyawa 7,12-dimetilbenz( )anthracene (DMBA) adalah zat kimia yang termasuk dalam *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang dikenal bersifat mutagenik, teratogenik, karsinogenik, sitotoksik, dan immunosupresif. Secara alami DMBA dapat ditemukan di alam sebagai hasil dari proses pembakaran yang tidak sempurna seperti pada pecahan tar dari asap rokok, asap pembakaran kayu, dan, asap pembakaran gas (Kim *et al.*, 2010).

Secara alami tubuh juga telah mempunyai antioksidan sebagai inhibitor yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang relatif stabil. Akan tetapi, bila terjadi paparan radikal bebas yang terlalu banyak, antioksidan alami tersebut tidak mampu untuk mengatasinya. Dalam keadaan seperti ini tubuh memerlukan suplai antioksidan dari luar tubuh salah satunya adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dari suku *Thymelaceae* (Simanjuntak, 2008).

Senyawa *flavonoid* dalam buah mahkota dewa merupakan kandungan yang tertinggi, disamping senyawa *alkaloid*, *saponin*, *fenolik hidrokuinon*, *tanin*, dan *steroid*. Senyawa *flavonoid* mempunyai khasiat sebagai antioksidan dengan

menghambat berbagai reaksi oksidasi serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida, dan radikal peroksil (Satria, 2005). Semakin tinggi kadar flavonoid, maka potensi antioksidannya akan semakin tinggi (Soeksmanto dkk., 2007).

Dalam rangka mengembangkan penelitian tentang mahkota dewa sebagai obat herbal maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA. Organ yang dipilih adalah paru-paru, untuk melihat gambaran histopatologi paru-paru setelah diinduksi DMBA dan diberi ekstrak mahkota dewa.

## Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode acak terkontrol dengan pola *Post Test–Only Control Group Design*. Menggunakan 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sprague dawley* berumur 5 minggu yang dipilih secara random yang dibagi menjadi 5 kelompok, dengan pengulangan sebanyak 5 kali, digunakan sebagai subjek penelitian.

Bahan penelitian yang digunakan yaitu DMBA dengan dosis 30 mg/kgBB dan ekstrak mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan dosis 120 mg/kgBB; 240 mg/kgBB; dan 480 mg/kgBB. Kelompok I sebagai kontrol normal, hanya yang diberi aquades. Kelompok II sebagai kontrol patologis, diberikan DMBA dengan dosis 30 mg/kgBB. Kelompok III, IV, dan V adalah kelompok perlakuan coba dengan pemberian DMBA dosis 30 mg/kgBB. Setelah dua bulan, kelompok III, IV, dan V diberikan ekstrak buah mahkota dewa masing-masing dengan dosis 120 mg/kgBB, 240 mg/kgBB, dan 480 mg/kgBB secara peroral selama 15 hari. Setelah 15 hari, perlakuan diberhentikan. Selanjutnya tikus *dinarkose* dengan ether dan dilakukan pembedahan. Dilakukan laparotomi, paru tikus diambil untuk dibuat sediaan mikroskopis. Pembuatan sediaan mikroskopis dengan metode *paraffin* dan pewarnaan *Hematoksilin Eosin*.

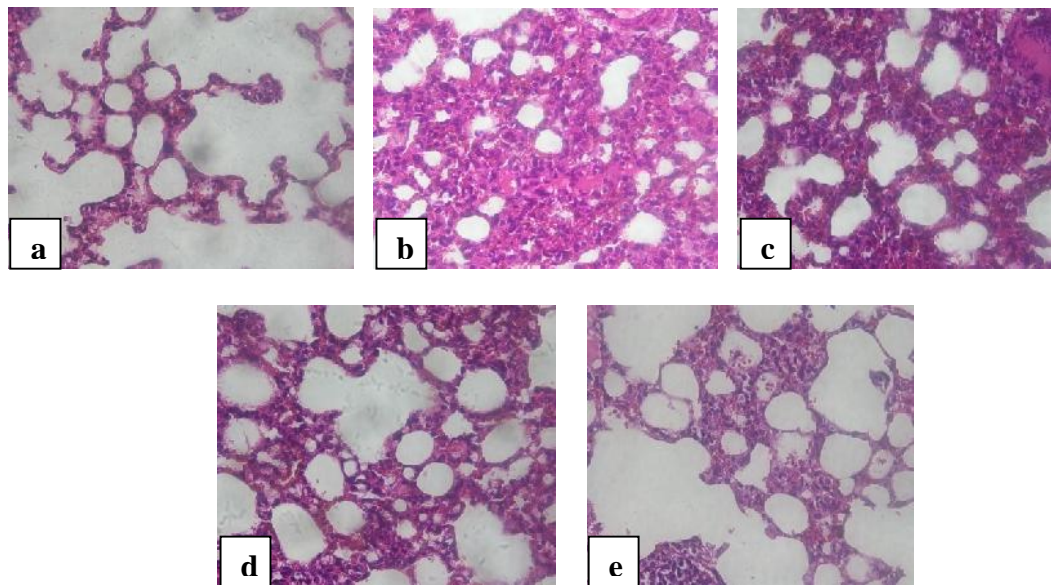
Gambaran histopatologi paru diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x. Kerusakan yang dinilai adalah jumlah infiltrasi sel radang. Data

yang diperoleh dibandingkan antara kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, dan kelompok perlakuan ekstrak.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penelitian ini menggunakan hewan coba sebagai sampel sehingga dalam pelaksanaan penelitian, peneliti menerapkan prinsip 3R, yaitu *Replacement, Reduction, Refinement*.

### Hasil

Hasil penelitian berupa preparat histopatologi paru tikus diamati secara mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X untuk menganalisis adanya kerusakan paru yang terjadi berupa adanya infiltrasi sel radang. Setiap preparat paru diambil 5 lapang pandang kemudian kerusakan paru tersebut dipresentasikan dalam bentuk skor kerusakan paru.



**Gambar 1.** Histopatologi paru kelompok: a. kontrol negatif; b. kontrol positif; c. kelompok perlakuan mahkota dewa dosis 120 mg/kgBB; d. kelompok perlakuan mahkota dewa dosis 240 mg/kgBB; e. kelompok perlakuan mahkota dewa dosis 480 mg/kgBB.

Analisis gambaran histopatologi paru tikus pada setiap kelompok perlakuan tampak pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil rata-rata gambaran histopatologi infiltrasi sel radang

Kelompok Uji	Rata-Rata Infiltrasi Sel Radang (X±SD)
K1	6,60±1,140
K2	13,80±0,837
K3	12,20±0,837
K4	10,80±0,837
K5	9,40±1,140

Rerata jumlah infiltrasi sel radang pada alveolus tikus tiap kelompok diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk*. Hasil analisis *Shapiro-Wilk* tampak pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Analisis *Shapiro-Wilk* gambaran infiltrasi sel radang

Kelompok Uji	P
K1	0,771
K2	0,965
K3	0,314
K4	0,298
K5	0,826

Dari Tabel 2 tersebut terlihat bahwa semua kelompok uji memiliki distribusi data yang normal karena memiliki nilai  $p > 0,05$ . Setelah data berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA*. Uji *One-way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa terhadap kerusakan alveolus paru tikus. Hasil yang didapatkan pada uji varians  $p = 0,001$  yang berarti bermakna.

Setelah uji *One-way ANOVA* didapatkan bermakna maka selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc LSD* untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki perbedaan bermakna tersebut. Hasil uji *Post Hoc LSD* dapat dilihat di Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil uji statistik infiltrasi sel radang perbandingan antar kelompok

Kelompok	I	II	III	IV	V
I	---	---	---	---	---
II	0,000	---	---	---	---
III	0,000	0,013	---	---	---
IV	0,000	0,000	0,026	---	---
V	0,000	0,000	0,000	0,026	---

**Ket.** Hasil analisis *Post Hoc LSD* bermakna jika  $p < 0,05$

### Pembahasan

Pada kelompok tikus normal kontrol negatif (K1) tampak sel radang akut dalam jumlah paling sedikit yaitu sebanyak  $6,60 \pm 1,140$ . Hal ini menunjukkan bahwa walaupun dalam keadaan normal, sel radang masih tetap ada. Adanya sel radang tersebut dapat ditimbulkan karena respon normal proses biokimia *internal* maupun *eksternal* dari dalam tubuh dapat menghasilkan suatu radikal bebas endogen yang pada akhirnya dapat menimbulkan terjadinya suatu inflamasi (Adrianti, 2009).

Pada kondisi normal, sudah ditemukan sel radang pada septa alveoli paru senilai keberadaan sel radang pada kondisi normal sesuai dengan peneliti terdahulu (Sekhon, 2011) dan berdasarkan literatur telah dijelaskan bahwa secara normal, radikal bebas sudah terdapat di dalam tubuh. Radikal bebas jenis ini disebut *endogenous free radical*. Secara alami, tubuh juga telah mempunyai antioksidan sebagai *inhibitor* yang bekerja menghambat oksidasi dengan cara bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas yang relatif stabil. Akan tetapi, bila terjadi paparan radikal bebas yang terlalu banyak, antioksidan alami tersebut tidak mampu untuk mengatasinya. Dalam keadaan seperti ini tubuh memerlukan suplai antioksidan dari luar tubuh (Sofia, 2005).

Pada kelompok kontrol positif (K2) tampak peningkatan jumlah sel radang yang cukup besar hingga memenuhi seluruh septa alveoli. Fakta tersebut menunjukkan adanya proses peradangan yang hebat pada struktur alveoli paru. Pada tabel dan grafik tampak bahwa pada K2 terjadi peningkatan jumlah sel

radang secara bermakna dibandingkan dengan K1. Keadaan bermakna tersebut bisa dilihat melalui uji *Post Hoc LSD*, dimana K1 dan K2 diperoleh nilai p sebesar 0,001 sehingga dapat dikatakan bahwa perlakuan K1 dan K2 memberikan pengaruh yang bermakna terhadap jumlah sel radang tikus.

Pada kelompok tikus yang diinduksi DMBA dosis 30 mg/kgBB (K2) ditemukan peningkatan jumlah sel radang yang sangat signifikan pada alveolus paru tikus putih. Artinya induksi DMBA sudah mempunyai peranan yang bermakna dalam proses terjadinya reaksi radikal bebas sehingga memicu proses peradangan. Hal ini diduga disebabkan oleh karena induksi DMBA sudah dapat meningkatkan radikal bebas dalam suatu sistem biologi tubuh serta memicu pembentukan radikal bebas oleh sel fagosit yang teraktivasi pada proses peradangan, sedangkan tubuh tidak mampu mengkompensasi radikal bebas akibat akumulasi yang berlebihan yang terkandung dalam DMBA. Apabila radikal bebas dalam DMBA menyerang membran sel akan mengakibatkan *peroksidasi lipid* sehingga terjadi kerusakan struktur alveoli paru, yang akhirnya memicu tubuh mengeluarkan sel-sel radang ke tempat yang mengalami kerusakan sehingga terjadi reaksi peradangan.

Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak buah mahkota dewa dengan dosis 120 mg/kgBB yang diinduksi oleh DMBA 30 mg/kgBB (K3) memiliki rerata infiltrasi sel radang sebesar  $12,20 \pm 0,837$  Pada gambaran mikroskopis terjadi kerusakan yang lebih sedikit dibanding K2.

Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak buah mahkota dewa dengan dosis 240 mg/kgBB dan diinduksi DMBA dosis 30 mg/kgBB (K4) memiliki rata-rata skor yang lebih rendah dari K3 yaitu sebesar  $10,80 \pm 0,837$ . Terjadi penurunan infiltrasi sel radang berkurang dan lebih sedikit terjadinya fokus perdarahan.

Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak buah mahkota dewa dengan dosis 480 mg/kgBB dan diinduksi DMBA dosis 30 mg/kgBB (K5) memiliki rata-rata infiltrasi sel radang yaitu sebesar  $9,40 \pm 0,837$ . Tikus perlakuan K5 memiliki skor infiltrasi sel radang yang lebih sedikit dibanding K3 dan K4. Dan memiliki hasil signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan K1 yaitu  $p = 0,01$ .

Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak buah mahkota dewa yaitu K3, K4, dan K5 mempunyai gambaran histopatologi dengan derajat kerusakan yang berbeda-beda tetapi lebih ringan dibandingkan dengan K2. Hasil pengamatan infiltrasi sel radang baik pada K3, K4, dan K5 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) melalui analisis *Post Hoc LSD* jika dibandingkan dengan K2. Nilai ini berarti menunjukkan bahwa tikus yang diberikan ekstrak buah mahkota dewa mampu menurunkan infiltrasi sel radang alveolus paru tikus putih yang diinduksi DMBA dosis 30 mg/kgBB.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak buah mahkota dewa memiliki sebagai efek antioksidan. Buah mahkota dewa memiliki antioksidan alami yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan sel (Sahdiah, 2013).

Hal ini sejalan dengan penelitian-penelitian sebelumnya tentang ekstrak buah mahkota dewa. Salah satunya penelitian Yandi Syukri dan Saepudin pada tahun 2008 yaitu penelitian tentang aktivitas antikarsinogenesis ekstrak buah mahkota dewa pada mencit yang diinduksi DMBA. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah mahkota dewa kadar 25 mg dengan dosis ekstrak yang setara dengan 200 mg serbuk daging mahkota dewa mampu mencegah pembentukan tumor pada paru mencit yang diinduksi oleh DMBA. Efek antikarsinogenik dinilai berdasarkan gambaran histopatologis, jumlah hewan yang mati pada tiap kelompok, dan berat badan hewan uji.

Potensi antioksidan mahkota dewa juga telah dibuktikan dengan uji fitokimia *alkaloid*, *flavonoid*, *tanin*, dan *saponin* menunjukkan hasil uji positif. Senyawa-senyawa tersebut sangat berperan sebagai zat yang mampu menghambat reaksi *oksidasi lipid* (Salim, 2006).

*Flavonoid* yang berfungsi sebagai antioksidan dengan cara menghambat terbentuknya radikal bebas, menghambat *peroksidasi lipid* dan mengubah struktur membran sel (Prasetyo dkk., 2002).

Sesuai mekanisme kerjanya antioksidan memiliki dua fungsi, yaitu sebagai pemberi atom hidrogen dan memperlambat laju autooksidasi yang menghambat terbentuknya radikal lipid. Dengan memberikan atom hidrogen pada radikal lipid



makaradikal lipid tersebut akan berubah menjadi bentuk lebih stabil dan tidak mengakibatkan kerusakan yang lebih berat (Winarsi, 2005).

## Simpulan

Pemberian ekstrak etanol buah mahkota dewa baik dengan dosis 120 mg/kgBB, dosis 240 mg/kgBB, dan dosis 480 mg/kgBB mampu memberikan efek antioksidan dibuktikan dengan penurunan jumlah infiltrasi sel radang.

## Daftar Pustaka

- Andriyanti R. 2009. Ekstraksi senyawa aktif antioksidan dari lintah laut (*Discodoris* sp.) asal Perairan Kepulauan Belitung. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Ancuceanu RV, Victoria I. 2004. Pharmacologically active natural compounds for lung cancer. *Altern Med Rev.* 9(4):402–19.
- Droge W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82:47–95.
- Kim JM, Lee EK, Kim DH, Yu BP, Chung HY. 2010. Kaempferol modulates pro-inflammatory NF-kappaB activation by suppressing advanced glycation endproduct-induced NADPH oxidase. *The Official Journal of the American Aging Association.* 32(2):197–208.
- Kirkham P, Rahman I. 2005. Oxidative stress in asthma and COPD: antioxidants as a therapeutic strategy. *Respiratory Diseases, Novartis Institutes for Biochemical Research, Westham, North Sussex, UK.* pp. 13.
- Kopper L, Timar J. 2005. Pathology and oncology research. *Official Journal of the Arányi Lajos Foundation.* pp. 33.
- Prasetyo B, Praseno, Astuti I. 2002. Pengaruh rebusan herbal meniran (*Phyllanthus niruri* L.) terhadap kadar alanin amino transferase mencit putih (*Mus musculus*) yang diinduksi karbon tetraklorida. *Artikel penelitian.* Yogyakarta. hlm. 15.
- Sahdiah H. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih yang diinduksi isoniazid. *Lampung: Majority Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.* 2(2):7.
- Salim 2006. Penentuan daya inhibisi ekstrak air dan etanol daging buah mahkota dewa terhadap aktivitas enzim tirosin kinase secara in vitro. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Satria E. 2005. Potensi antioksidan dari daging buah muda dan daging buah tua mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.]. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Shekon SS. 2011. Efek pemberian vitamin E terhadap jumlah sel radang alveoli paru tikus galur wistar yang dipapar asap rokok kretek subakut. [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Simanjuntak P. 2008. Identifikasi senyawa kimia dalam buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) thymelaceae. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* hlm. 23–8.
- Soeksmanto A, Hapsari Y, Simanjuntak P. 2007. Kandungan antioksidan pada beberapa bagian tanaman mahkota dewa. *Jakarta: Jurnal Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.* hlm. 8–9.
- Sofia D. 2005. Antioksidan dan radikal bebas. *Majalah ACID Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.* 3(5):17.

- Stevenson CS, Koch LG, Britton SL. 2005. Aerobic capacity, oxidant stress, and chronic obstructive pulmonary disease—a new take on an old hypothesis. *Pharmacology & Therapeutics*. pp. 71–82.
- Syukri Y, Saepudin. 2008. Aktivitas antikarsinogenesis ekstrak etanol daging buah mahkota dewa pada mencit yang diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)anthracene. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 6(2):63–7.
- Winarsi H. 2005. Isoflavon: berbagai sumber, sifat, dan manfaat pada penyakit degeneratif, ed.1. Yogyakarta: Gajah Mada University Press. hlm. 9-10.