

The Effect of Soursop Leaf Extract to Hemoglobin Levels in Rats Induced by Carcinogen 7,12dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)

Susantiningih T, Jaelani AY, Mustofa S, Zulfian
Medical Faculty Lampung University

Abstract

Cancer is the process of body cells proliferation that are not controlled. Human death rates increase every year caused by cancer. Treatment of cancer include surgery, radioterapy, and chemotherapy have side effect so natural anticancer is needed such as soursop leaf (*Annona muricata* L.) that contain antioxidant and anticancer material. The aim for this research is to determine effect of soursop leaf extract to hemoglobin levels on female rats induced by DMBA. This study is an experimental design with 4 group of intervention. Each group contains 5 female *Sprague dawley* rats. Group K(-) (control negative) given 1 ml/day of aquadest; group K(+) (control positive) given 20mg/kgBB of DMBA twice a weak; group P1 (first treatment) given 20 mg/kgBB of DMBA twice a weak and 20mg/kgBB of extract sourop leaf and group P2 (second treatment) given 20mg/kgBB of DMBA and 40 mg/kgBB soursop leaf extract. In this study, statistical test was using *one-way ANNOVA* ($p < 0,05$) and *post-hoc Mann Whitney* test ($p < 0,05$). The result showed the effect of DMBA in each group have significant results which marked by increasing hemoglobin, but soursop leaf extract in this study does not provide a significant change.

Keyword: *Annona muricata* L., DMBA, hemoglobin levels

Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Kadar Hemoglobin Darah Tikus Putih yang Diinduksi Karsinogen 7,12dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)

Susantiningih T, Jaelani AY, Mustofa S, Zulfian
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Abstrak

Kanker merupakan proses proliferasi sel-sel tubuh yang tidak terkendali. Angka kematian yang disebabkan oleh kanker meningkat setiap tahunnya. Pengobatan kanker berupa pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi memiliki efek samping sehingga perlu penggunaan bahan alami, salah satunya tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) yang memiliki kandungan antioksidan dan antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak terhadap kadar Hemoglobin tikus putih betina yang diinduksi DMBA. Desain penelitian ini adalah eksperimental dengan 4 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih betina *Sprague dawley*. Kelompok K(-) (kontrol negatif) diberikan akuades 1 ml/hari; kelompok K(+) (kontrol positif) diberikan DMBA 20 mg/kgBB 2 kali seminggu; kelompok P1 (perlakuan 1) diberikan DMBA 20 mg/kgBB 2 kali seminggu + ekstrak daun sirsak 20 mg/kgBB/hari; dan kelompok P2 (perlakuan 2) diberikan DMBA 20 mg/kgBB 2 kali seminggu + ekstrak daun sirsak 40 mg/kgBB/hari. Uji yang digunakan adalah uji *one-way ANNOVA* ($p < 0,05$) dan uji *post-hoc Mann Whitney* ($p < 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan pada pemberian DMBA di setiap kelompok menunjukkan hasil yang bermakna yang ditandai dengan meningkatnya hemoglobin. Tetapi pemberian ekstrak daun Sirsak pada penelitian ini tidak memberikan perubahan yang signifikan.

Kata kunci: *Annona muricata* L., DMBA, kadar hemoglobin

Pendahuluan

Kanker merupakan suatu proses *proliferasi* sel-sel di dalam tubuh yang tidak terkendali. Di perkirakan setiap tahun, 12 juta orang di seluruh dunia menderita kanker dan 7,6 juta di antaranya meninggal dunia. Jika tidak dikendalikan, pada tahun 2030, diperkirakan 26 juta orang akan menderita kanker dan 17 juta orang meninggal karena kanker (WHO, 2013).

Kanker dapat terjadi karena adanya perubahan DNA sel atau disebut juga mutasi. Salah satu mutagen adalah *polisiklik aromatis hidrokarbon* (PAH) yang ditemukan pada saat pembakaran bahan organik yang tidak sempurna.^{7,12} *dimethylbenz[*a*]anthracene* (DMBA) merupakan salah satu dari tiga produk degradasi PAH yang berpotensi sebagai bahan sitotoksik, mutagenik, agen immunosupresif, dan karsinogen (Hartono dkk., 2013).

Pengobatan pada kanker umumnya meliputi pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi. Namun ketiga cara tersebut memiliki efek samping seperti perdarahan, infeksi berat, mual, muntah, kulit kering, rambut rontok, dan sulit menelan (Siregar, 2007).

Kecenderungan penggunaan obat yang berasal dari alam semakin meningkat, salah satunya adalah tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) yang banyak tersebar di Indonesia (Amelia dkk., 2012). Tanaman sirsak memiliki kandungan seperti *acetogenins*, *flavonoid*, *terpenoid*, *phytosterol*, dan senyawa *polyphenol* yang memiliki efek antioksidan serta antikanker (Retnani, 2011; Adewole, 2008). Oleh karena itu, pada penelitian ini dipilih daun sirsak untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kadar hemoglobin tikus yang diinduksi karsinogen DMBA.

Metode

Sampel dibagi menjadi empat kelompok yang terdiri dari masing-masing 5 tikus betina galur *Sprague dawley*, yaitu:

- Kelompok K(-): kontrol negatif dengan pemberian *akuadest* 1 ml
- Kelompok K(+): kontrol positif dengan pemberian DMBA 20 mg/kgBB
- Kelompok P1: perlakuan dengan pemberian DMBA 20 mg/kgBB dan pemberian ekstrak daun sirsak 20 mg/kgBB

- Kelompok P2: perlakuan dengan pemberian DMBA 20 mg/kgBB dan pemberian ekstrak daun sirsak 40 mg/kgBB

Awalnya, setiap tikus diukur berat badannya untuk menghitung dosis ekstrak daun sirsak yang akan diberikan. Pemberian DMBA dilakukan setiap 2 kali seminggu menggunakan sonde lambung, sedangkan pemberian *aquadest* dan ekstrak daun sirsak dilakukan setiap hari sesuai dosis dengan menggunakan sonde lambung.

Setelah 4 minggu, tikus diterminasi dengan anastesi terlebih dahulu menggunakan *Ketamine-xylazine* 75-100mg/Kg + 5-10 mg/Kg secara intraperitoneal, kemudian di *euthanasia* dengan metode *cervical dislocation* berdasarkan *Institusional Animal Care and Use Committee* (IACUC) (Leary dkk., 2013). Setelah itu periksa kadar Hemoglobin dengan alat pengukur HB digital (*easytouch hb meter*).

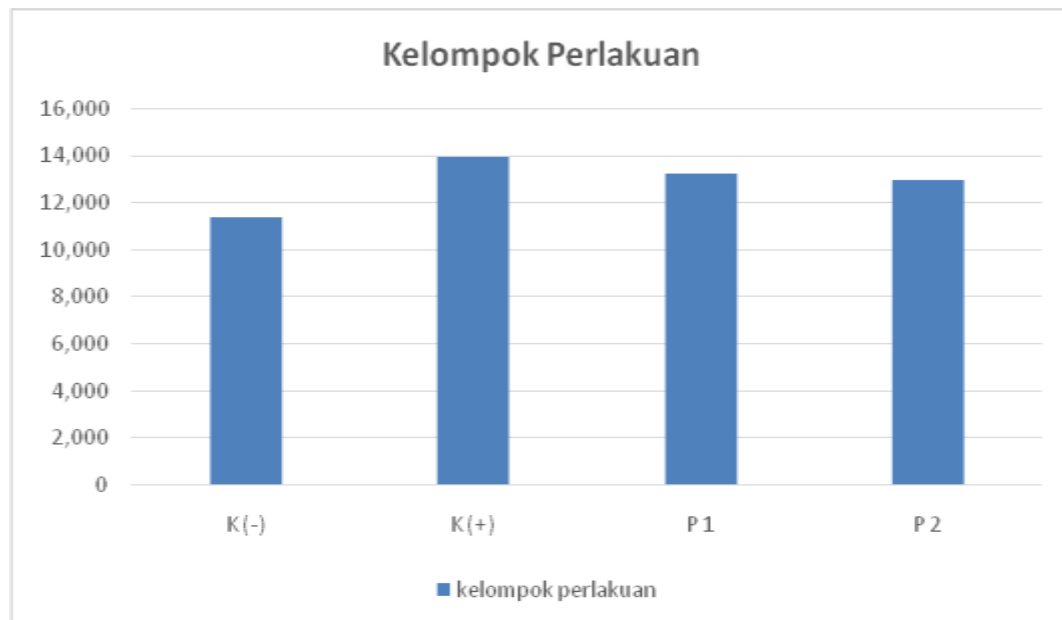
Data yang diperoleh diuji analisis statistik menggunakan program pengolahan data. Langkah pertama adalah dengan melakukan uji normalitas data yaitu dengan menggunakan uji Saphiro-Wilk. Selanjutnya, jika didapatkan hasil $>0,05$ maka distribusi data normal, tetapi jika distribusi data tidak normal ($<0,05$) maka digunakan uji alternatif yaitu uji Kruskal-Wallis. Setelah itu dapat digunakan uji parametrik *one-way ANNOVA* dan dilanjutkan dengan post-hoc LSD (Dahlan, 2011).

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

Hasil

Data yang telah diperoleh diolah dengan perangkat lunak pengolahan statistik menggunakan komputer. Tahap pertama adalah uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel yang digunakan kurang dari 50. Berdasarkan hasil uji tersebut data yang diperoleh memiliki distribusi yang normal dengan $p>0,05$ (kelompok K(-) nilai $p=0,924$; kelompok K(+)) nilai

$p=0,592$; kelompok P1 nilai $p=0,918$, kelompok P2 nilai $p=0,612$) sehingga dapat dilanjutkan dengan uji homogenitas *Levene* lalu dilanjutkan dengan uji *One Way ANNOVA* untuk mengetahui apakah terdapat varian data yang berbeda secara bermakna (Dahlan, 2011).



Gambar 1. Grafik perbandingan kadar hemoglobin di tiap kelompok

Setelah dilakukan uji homogenitas *Levene* diperoleh nilai $p>0,05$ ($p=0,765$) yang berarti data yang diperoleh adalah data yang homogen. Pada uji *One Way ANNOVA* diperoleh nilai $p<0,05$ ($p=0,013$) yang berarti terdapat varians data yang berbeda secara bermakna. Untuk mengetahui dimanakah letak perbedaan yang bermakna tersebut diperlukan analisis *post hoc LSD* (Dahlan, 2011).

Tabel 1. Hasil analisis *post hoc LSD* kadar hemoglobin hewan coba

No.	Kelompok	Perbedaan kadar Hemoglobin (mg/dl)	P	Kemaknaan
1.	K(-) dengan K(+)	-2.5800	.002	Bermakna
2.	K(-) dengan P1	-1.8600	.016	Bermakna
3.	K(-) dengan P2	-1.5800	.036	Bermakna
4.	K(+) dengan P1	.7200	.314	Tidak bermakna
5.	K(+) dengan P2	1.0000	.168	Tidak bermakna

6.	P1 dengan P2	.2800	.691	Tidak bermakna
----	--------------	-------	------	----------------

Pembahasan

Perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, perlakuan 1 dan perlakuan 2 menunjukkan bahwa pemberian senyawa karsinogenik DMBA memberikan hasil yaitu kenaikan kadar hemoglobin hal ini di karenakan aktivitas karsinogenik dari DMBA terjadi melalui aktivasi metabolisme (biotransformasi) untuk menghasilkan karsinogenesis. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P450 membentuk *proximatecarcinogen* dan *ultimate carcinogen* (Pretysta, 2012).

Pada tahap awal terjadinya karsinogenesis terdapat proses neovaskularisasi atau pembentukan pembuluh darah baru. Tumor mengandung faktor yang mampu mempengaruhi seluruh rangkaian kejadian yang berperan dalam pembentukan kapiler baru. Faktor angiogenik terkait tumor (*tumor associated angiogenic factor*) mungkin dihasilkan oleh sel tumor atau mungkin berasal dari sel radang. Dari sekitar selusin faktor angiogenik terkait tumor, dua yang paling penting adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF, faktor pertumbuhan endotel vascular), dan *basic fibroblast growth factor*. Sekarang telah jelas bahwa sel tumor tidak saja menghasikan faktor angiogenik tetapi juga menginduksi molekul antiangiogenesis. Paradigma yang muncul adalah bahwa pertumbuhan tumor dikendalikan keseimbangan antara faktor angiogenik dan faktor yang menghambat angiogenesis. Faktor antiangiogenesis seperti trombospondin-1 mungkin dihasilkan oleh sel tumor itu sendiri, atau produksinya mungkin dipicu oleh sel tumor. Kategori yang terakhir mencakup angiostatin, endostatin, dan vaskulostatin. Ketiga inhibitor angiogenesis yang paling poten ini masing masing berasal dari penguraian plasminogen, kolagendan transtiretin secara proteolitik.

Ekstrak daun sirsak yang digunakan dalam penelitian ini, diberikan dalam 2 dosis dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan pemberian dosis ekstrak daun sirsak tersebut terhadap kadar hemoglobin tikus. Senyawa bioaktif yang ditemukan pada daun sirsak adalah *acetogenin*. Pada daun sirsak, telah ditemukan 18 jenis *annonaceus acetogenin* dan telah terbukti secara in vitro bersifat sitotoksik, dan memiliki kemampuan sitotoksik 10.000 kali lebih kuat daripada terapi kemoterapi (Wijayanti, 2011). Sifatnya yang sitotoktik ini sangat

berguna untuk menyerang sel kanker yang pertumbuhannya yang pertumbuhannya sangat cepat di dalam jaringan tubuh. Walaupun sifatnya sitotoksik, namun acetogenin relatif tidak menyerang sel normal. Dan hanya menyerang sel kanker secara spesifik (Retnani, 2011). Ekstrak daun sirsak memiliki kandungan senyawa *acetogenin* yang berfungsi sebagai antitumor. *Acetogenin* bekerja dengan menghambat produksi ATP dengan mengganggu kompleks I mitokondria. Pengaruh *acetogenin* menjadikan permeabilitas membran terganggu dan menghambat berkembangnya sel kanker sehingga memberikan kesempatan bagi tubuh untuk melakukan mekanisme pengaturan kematian sel melalui apoptosis yang dipicu TNF α (Amelia *et al*, 2012; Wijaya, 2012). Selain itu ekstrak daun sirsak memiliki kandungan flavonoid, terpenoid, alkaloid, minyak atsiri, polifenol, saponin, dan tanin yang berperan sebagai antitumor, antimikroba, antiparasit, dan antivirus (Wijaya, 2012).

Pada penelitian ini pemberian ekstrak daun sirsak yang dilakukan menunjukkan hasil yang tidak bermakna secara statistik karena hanya terjadi sedikit penurunan angka, hal ini mungkin disebabkan karena pemberian dosis ekstrak daun sirsak maupun DMBA yang kurang tinggi pada penelitian ini atau bisa jadi karena pemberian ekstrak daun sirsak pada tikus putih ini tidak dilakukan dengan benar sehingga menimbulkan hasil yang tidak bermakna.

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil simpulan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak tidak memiliki pengaruh terhadap kadar hemoglobin darah tikus yang di induksi karsinogen DMBA.

Daftar Pustaka

- Adewole SO, Ojewole JAO. 2008. Protective effects of *Annona muricata* L. (*annonaceae*) leaf aqueous extract on serum lipid profiles & oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*. 6(1):30-41.
- Amelia F, Angeline E, Wahyu K. 2012. Tablet salut enterik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai anti kanker kolon yang potensial. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada.
- Dahlan MS. 2011. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan: Deskriptif, Bivariat, dan Multivariat, Dilengkapi Aplikasi dengan Menggunakan SPSS. Edisi 5. Jakarta: Salemba Medika. hlm. 87-8.

- Hartono IA, Indra MR, Rahayu P. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap jumlah CSCs (cancer stem cells) pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi DMBA(7,12 dimetilbenz[α]anthracene). [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Leary, S., Underwood, W., Anthony, R., Cartner, S., Corey, D., Grandin, T. 2013. AVMA Guidelines for Euthanasia of Animals. hlm. 30–48.
- Pretysta YN. 2012. Pengaruh sari kedelai (*Glycine max* L.) terhadap gambaran histopatologi sel kanker paru pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(α)antrasen (DMBA). [Skripsi]. Jember: Fakultas Kedokteran Universitas Jember.
- Retnani V. 2011. Pengaruh suplementasi ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kejadian displasia epitel kelenjar payudara tikus *Sprague dawley* yang di induksi 7,12 dimetilbenz[α]anthracene. [Skripsi]. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Siregar GA. 2007. Deteksi dini dan penatalaksanaan kanker usus besar. [Skripsi]. Medan: Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- WHO. 2013. Preventing Chronic Disease a Vital Investment. http://www.who.int/chp/chronic_disease_report/en/. Diakses tanggal 29 Oktober 2013 pukul 15.00.
- Wijaya M. 2012. Ekstraksi *annonaceous acetogenin* dari daun sirsak, *Annona muricata*, sebagai senyawa bioaktif antikanker. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Wijayanti A, Maria AF, Khasanah SN. 2011. Pengaruh pemberian ekstrak kunyit putih (*Curcuma alba*) terhadap nilai hemoglobin, PCV (*Packed Cell Volume*), jumlah dan diferensial leukosit tikus yang terpapar asap sepeda motor. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada