THE INFLUENCE OF GIVING *Phaleria macrocarpa* FRUITS EXTRACTS AGAINST DYMETHYLBENZ()ANTHRACENE (DMBA) INDUCED HEPAR HISTOPATHOLOGY APPEARANCE IN *Sprague dawley* RATS

Ariani D, Muhartono, Mustofa S Medical Faculty of Lampung University

ABSTRACT

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) is one type of plant that originated from island of Papua but able to live well in other place. It reported to have various biological activities as hepatoprotector. *Phaleria macrocarpa* (PM) contain flavonoid and polifenol which are neutralize free radicals because of their antioxidant and antiinflammatory activity. The aim of this research was to determine the influence of giving etanol 70% extract of Mahkota dewa fruit. In this study, twenty five rats (Rattus novergicus) Sprague dawley strain devided into five groups and given treatment for 14 days. G1 (only given aquadest), G2 (only given DMBA 30 mg/BW), G3 (given DMBA and PM extract 24 mg), G4 (given DMBA and PM extract 48 mg), G5 (given DMBA and PM extract 96 mg).Result showed that total average of inflammation in G1 was 1,08; G2: 3,32; G3: 2,92; G4: 2,28; G5: 1,84. The conclusion of this research is that Mahkota dewa extract 24 mg, 48 mg, and 96 mg could act against DMBA-induced hepar inflammation in rats by mechanism related to its antioxidant and antiinflammatory properties.

Key words: antioxidant,dmba, hepar,Phaleriamacrocarpa

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK Phaleria macrocarpaTERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGIS HEPAR TIKUS Sprague dawley YANG DIINDUKSI 7,12-DYMETHYLBENZ()ANTHRACENE (DMBA)

ABSTRAK

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) merupakan salah satu tanaman yang berasal dari Pulau Papua namun dapat hidup dengan baik di tempat lainnya. Dia dilaporkan dilaporkan memiliki berbagai aktivitas biologi seperti hepatoprotektor. *Phaleria macrocarpa* (PM) mengandung flavonoid dan polifenol yang dapat menetralkan radikal bebas karena aktivitas antioksidan dan antiinflamasinyanya. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% buah mahkota dewa. Pada penelitian ini, 25 tikus dibagi dalam 5 kelompok dan diberi perlakuan selama 14 hari. K1 (hanya diberi aquades), K2 (hanya diberi DMBA 30 mg/kgBB), K3 (diberi DMBA 30 mg/kgBB ekstrak PM 24 mg), K4 (diberi DMBA 30 mg/kgBB dan ekstrak PM 48 mg), dan K5 (diberi DMBA 30 mg/kgBB dan ekstrak PM 96 mg). Hasil penelitian menunjukkan total rerata inflamasi pada K1 yaitu 1,08; K2: 3,32; K3: 2,92; K4: 2,28; K5: 1,84. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak mahkota dewa dapat bertindak melawan inflamasi hepar tikus yang diinduksi DMBA yang berkaitan dengan sifat antioksidan dan antiinflamasinya.

Kata kunci: antioksidan, dmba, hepar, Phaleria macrocarpa

Pendahuluan

Hati merupakan organ metabolisme terpenting dalam proses sintetis, penyimpanan, metabolisme, dan klirens banyak senyawa endogen. Salah satu fungsi hati adalah detoksikasi, sehingga hati mudah menjadi sasaran utama ketoksikan. Penyakit hati tergolong sebagai salah satu penyakit yang merupakan problem nasional di Indonesia dan negara berkembang pada umumnya, bahkan merupakan masalah yang hangat di negara–negara maju. Berdasarkan laporan dari Rumah Sakit Umum Pusat(RSUP) tipe A dan B di seluruh Indonesia, ternyata penyakit hepar menempati urutan ketiga setelah penyakit infeksi dan penyakit paru, bahkan penyakit hepar penyebab kematian tergolong tinggi (Akhirunnisa, 2010).

Hepatoprotektor yang saat ini digunakan, harganya tidak terjangkau bagi masyarakat dan mengandung bahan kimia sehingga diperlukan hepatoprotektor yang aman dan terjangkau bagi masyarakat. Salah satu kandungan yang diperlukan sebagai hepatoprotektor adalah antioksidan yang banyak dikandung oleh berbagai macam tanaman yang mudah didapat oleh masyarakat, murah, dan tidak mengandung bahan kimia yang berbahaya (Situmorang, 2010). Salah satu tumbuhan obat Indonesia yang sangat populer saat ini adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dari suku Thymelaceae yang mempunyai potensi sebagai antiinflamasi dan antioksidan kuat (Wahyuningsih, 2010).

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap tikus galur *Sprague dawley* yang diinduksi 7,12-dymethylbenz()anthracene (DMBA). Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah dilakukan pemeriksaan mikroskopis untuk melihat kerusakan hepar dan yang diinduksi oleh DMBA.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode acak terkontrol dengan pola *post test–only control group design*. Penelitian dilakukan di Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Lampung(UNILA), sedangkan pembuatan preparat dan pengamatannya dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran UNILA. Penelitian dilaksanakan selama 15 hari di bulan Oktober dan November 2013.

Proses pembuatan ekstrak buah mahkota dewa dalam penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut. Ekstraksi dimulai dari penimbangan daun mahkota dewa. Selanjutnya seluruh bagian tumbuhan dikeringkan dalam almari pengering, dibuat serbuk dengan menggunakan *blender* atau mesin penyerbuk. Etanol dengan kadar 70% ditambahkan untuk melakukan ekstraksi dari serbuk ini selama kurang lebih 2 jam kemudian dilanjutkan maserasi selama 24 jam. Setelah masuk ke tahap filtrasi, akan diperoleh filtrat dan residu. Filtrat yang didapatkan akan diteruskan ke tahap evaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga akhirnya diperoleh ekstrak kering (Sulistianto dkk., 2004).

Penelitian ini menggunakan 20 ekor tikus putih yang telah diinduksi DMBA dan 5 ekor tikus putih normal galur *Sprague dawley* berumur 5minggu yang diperoleh dari laboratorium Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bogor.Tikus sebanyak 25 ekor, dikelompokkan dalam 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol normal, hanya yang diberi akuades dan pakan protein 14% untuk riset. Kelompok II sebagai kontrol patologis, diinduksi DMBA dengan dosis 30 mg/kgBB. Kelompok III adalah kelompok yang telah diinduksi DMBA 30 mg/kgBB dan diberikan ekstrak mahkota dewa dosis 24 mg, kelompok IV telah diinduksi DMBA 30 mg/kgBB dan diberikan ekstrak mahkota dewa dengan dosis 48 mg, dan kelompok V telah diinduksi DMBA dan diberikan ekstrak mahkota dewa dengan dosis 96 mg. Masing—masing mahkota dewa diberikan secara peroral selama 14 hari. Selanjutnya tikus dinarkose, dilakukan pembedahan untuk mengambil organ hepar, dan dilakukan pembuatan preparat. *Slide* diperiksa di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.Preparat histopatologi dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi untuk dikonsultasikan dengan ahli patologi anatomi.

Hasil

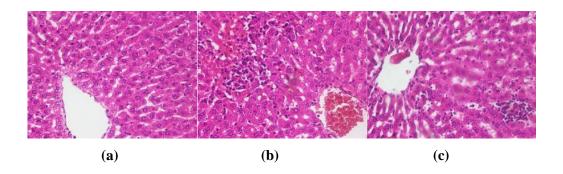
Preparat histopatologi hepar tikus dianalisisdengan mikroskop cahaya pembesaran 400x. Gambaran mikroskopis diinterpretasikan pada 5 lapang pandang kemudian diskor persentase sel radangnya. Skor persentase dari 5 lapangan pandang dijumlah lalu direratakan dan nilai skor inilah yang diambil.

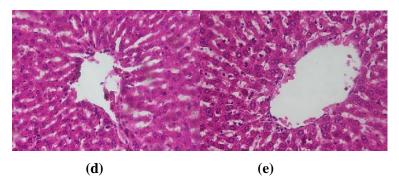
Penelitian ini mengacu pada penelitian yang telah dilakukan Arini dkk. (2003), yang menyatakan bahwa mahkota dewa yang menggunakan pelarut esktrak etanol 70% memiliki kadar flavonoid paling tinggi yaitu sebesar 45,739

μg/mg, sedangkan pada pelarut dengan menggunakan etanol 30% memiliki kadar flavonoid sebesar 34,082 μg/mg, etanol 50% memiliki kadar flavonoid 33,169 μg/mg, etanol 95% memiliki kadar flavonoid 43,913 μg/mg.

Pengamatan dilakukan terhadap hepatosit tikus yang terdapat di zona 3 lobulus hepar, karena zona 3 merupakan daerah yang paling sensitif terhadap kerusakan sel hepatosit, hal ini disebabkan letaknya di dekat vena sentralis sehingga zona ini memiliki cadangan oksigen yang sangat minim dibanding dua zona lainnya (Gartner dan Hiatt, 2007).

Pada pengamatan histopatologis didapatkan kelompok kontrol negatif (K1) yang hanya diberikan pakan dan aquades terlihat hepatosit tersusun radier, yaitu dari perifer lobulus ke vena sentralis sebagai pusatnya. Bentuk vena sentralis tampak normal dan tidak terlihat adanya infiltrasi peradangan yang nyata. Gambaran mikroskopis kelompok kontrol positif (K2) yang menggunakan DMBA 30 mg/kgBB dengan pembesaran 400x terlihat hepatosit mengalami peradangan dan terdapat eritrosit di vena sentralis. Keadaan ini ditemukan hampir di seluruh 5 lapangan pandang. Gambaran mikroskopiskelompok perlakuan ekstrak mahkota dewa pada K3, K4, dan K5 dengan dosis 24 mg, 48 mg, dan 96 mg, terlihat hepatosit mengalami peradangan dan terdapat eritrosit pada v.sentralis namun dengan tingkat yang lebih ringan dibandingkan dengan K2. Keadaan ini ditemukan hampir di seluruh 5 lapangan pandang.



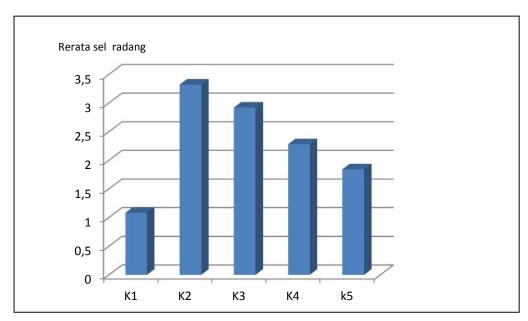


Ket: (a) Kelompok I; (b) Kelompok II; (c) Kelompok III; (d) Kelompok IV; (e) kelompok V

Gambar 1.Histopatologi hepar tikus dengan pembesaran 400x, pewarnaan HE

Pembahasan

Analisis gambaran histopatologi kerusakan hepar tikus dapat dilihat pada Gambar 2 dan didapatkan rerata hepatosit yang mengalami peradangan dari 5 lapang pandang pada tiap kelompok



Gambar 2. Grafik perbandingan persentasi hepatosit yang mengalami peradangan

Pada gambar 2, terlihat adanya peningkatan yang jumlah sel hepatosit yang mengalami peradangan pada kelompok II jika dibandingkan dengan kelompok I. Sedangkan reratajumlah sel hepatosit yang mengalami peradangan untuk

kelompok III, IV, dan V sangat menurun jika dibandingkan dengan kelompok II. Jika dibandingkan antara kelompok V dengan kelompok I,sel hepatosit yang mengalami peradangan tidak berbeda jauh dan hampir mendekati gambaran histopatologi hepar normal.

Pada kelompok kontrol positif (K2) yang hanya diinduksi oleh zat oksidan berupa DMBA dengan dosis 30 mg/kgBB selama 8 minggu terlihat mulai mengalami kerusakan yaitu berupa infiltrasi sel radang. Kerusakan sel hati ini dapat terjadi akibat DMBA yang dapat menyebabkan kerusakan DNA, akumulasi reactive oxygen species (ROS), dan memediasi inflamasi kronis (Manoharan dkk., 2010). Keberadaan ROS yang berlebihan menyebabkan terjadinya stres oksidatif karena adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh sehingga terjadi kerusakan sel yang ditandai dengan penurunan kadar antioksidan tubuh (Fiqriyana, 2010). Peningkatan ROS dalam sel hepatosit mampu merusak jaringan hepar yang memicu terjadinya inflamasi. Pada proses inflamasi dilepaskan berbagai mediator, salah satu diantaranya adalah prostaglandin. Prostaglandin disintesis dari asam arakidonat akibat adanya stimulasi kimiawi, mediator inflamasi, fisik, dsb, dengan bantuan ezim cyclooxygenase(COX), yaitu COX-1 dan COX-2 yang terinduksi pada sel yang mengalami inflamasi (Cahyono, 2007).DMBA juga menurunkan aktivitas enzim antioksidan yang bersifat kemoprotektif terhadap radikal bebas seperti superoxide dismutase dan katalase pada hepar (Paliwal dkk., 2011). Menurut Sharma dkk. (2012), stres oksidatif adalah mekanisme umum yang berkontribusi terhadap inisiasi dan perkembangan kerusakan hati dalam berbagai gangguan hati.

Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak mahkota dewa yaitu kelompok III, IV, dan V mempunyai gambaran histopatologi dengan derajat kerusakan yang berbeda-beda tetapi lebih ringan dibandingkan dengan kelompok II. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak mahkota dewa memiliki efek hepatoprotektif karena aktivitasnya sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Antioksidan di dalam mahkota dewa mempunyai aktivitas menetralkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan oksidatif pada sebagian besar biomolekul dan menghasilkan proteksi terhadap kerusakan oksidatif secara signifikan (Sreelatha dan Padma, 2009). Dari penelitian Hamid dkk. (2009), diketahui bahwa flavonoid memiliki potensi dan selektivitas yang tinggi untuk menghambat enzim CYP1A1 pada kultur hepatosit tikus. Enzim CYP1A1 dapar terinduksi oleh DMBA yang merupakan senyawa hidrokarbon aromatik melalui interaksinya dengan *Arylhydrocarbon Receptor* (AhR). Saat DMBA berinteraksi dengan

AhR, enzim CYP1A1 akan mengubah substratnya berupa DMBA menjadi bentuk reaktif berupa diol-epoksida DMBA. Selain itu, senyawa polifenol dan flavonoid berperan sebagai antiinflamasi karena aktivitasnya dilaporkan mampu menghambat enzim siklooksigenase sehingga konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin tidak terjadi. Mekanisme penghambantan COX ini akan mengurangi kerusakan hati (Reanmongkol dan Wattanapiromsakul, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah mahkota dewa memiliki efek sebagai hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi bahan oksidan DMBA. Hal ini dikarenakan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang terkandung di dalam buah mahkota dewa

Daftar pustaka

- Akhirunnisa DV. 2010. Efek hepatoprotektif ekstrak etanol 50% jamur lingzhi (*Ganoderma lucidum*) pada tikus jantan yang diinduksi parasetamol. Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Arini S, Nurmawan D, Alfiani F, Hertiani T. 2003. Daya antioksidan dan kadar flavonoid hasil ekstraksi etanol–air daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.). *Buletin Penalaran Mahasiswa UGM*. 1(10): 2–6.
- Cahyono JB. 2007. Obat inhibitor COX-2 dan penyakit kardiovaskuler. Deka Media. 1(20): 19–22.
- Fiqriyana MA. 2010. Pengaruh pemberian ekstrak *Euchema spinom* terhadap kadar glukosa dalam darah dan aktivitas superoksida dismutase (SOD) pada tikus terpapar multiple low doses streptozotocin (MLD-STZ). Skripsi. Malang: Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam Universitas Brawijaya
- Gartner LP, Hiatt JL. 2007. Color textbook of histology. Phiadelphia: Elsevier. pp. 340
- Hamid IS, Sugiyanto, Meiyanto E, Widyarini. 2009. Ekspresi CYP1A1 dan GSTμ hepatosit terinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena dan pengaruh pemberian ekstrak etanolik *Gynura procumbers*. Majalah Farmasi Indonesia. 20(4): 198–206.
- Manoharan S, Muneeswaran M, Baskaran N. 2010. Chemopreventive efficacy of berberine 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. India: Pharmacope Foundation. 1(4): 521-9.
- Paliwal R, Sharma V, Pracheta, Sharma SH. 2011. Hepatoprotective and antioxidant potential of *Moringa oleifera* pods against DMBA-induced hepatocarcinogenesis in male mice. International journal of drug development of research. 4(9): 753-7.
- Reanmongkol W, Wattanapiromsakul C. 2007. Evaluation of the analgesic, antipyretic and anti-inflammatory activities of the extracts from the pericarp of *Garcinia mangostana* Linn. in experimental animals. Songklanakarin journal of science and technology. 30(6): 739-45.
- Sharma V, Paliwal R, Janmeda P, Sharma S. 2012. Chemopreventive efficacy of *Moringa oleifera* pods against 7,12–dimethylbenz[a]anthracene induced hepatic carcinogenesis in mice. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 13: 2563-9.

- Situmorang TS. 2010. Pengaruh pemberian jus pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai hepatoprotektor terhadap hepar mencit yang dipapar parasetamol. Skripsi. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Sreelatha S, Padma PR. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Moringa oleifera* leaves in two stages of maturity. Plant foods for human nutrition. 64(4): 303-11.
- Sulistianto DE, Harini M, Handajani NS. 2004. Pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl] terhadap struktur histopatologis hepar tikus (Rattus norvegicus L.) setelah perlakuan dengan karbon tetraklorida (CCl₄) secara oral. Skripsi. Bogor: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Wahyuningsih MHS. 2010. Potensi pemngembangan obat bahan alam Indonesia untuk penyakit kanker: tantangan dan harapan. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. hlm. 5.