

**EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF MAHKOTA DEWA FRUIT (*Phaleria macrocarpa*) IN HISTOPATHOLOGY OF BREAST TISSUE OF FEMALE WHITE RATS (*Rattus norvegicus*) Sprague dawley STRAIN INDUCED 7,12-DIMETHYLBENZ( )ANTRACENE (DMBA)**

Shendy M, Windarti I, Muhartono, Sutyarso  
Medical Faculty of Lampung University

**Abstract**

Chemical carcinogen 7,12-dimethylbenz( )anthracene (DMBA) is a member of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) that possess cytotoxic, carcinogenic, mutagenic, and immunosuppressive. DMBA acts as a potent carcinogen materials by producing a wide variety of reactive metabolites that lead to oxidative stress. This research had done to determine the effect of fruit extracts mahkota dewa to histopathology of breast tissue induced by DMBA. This research is experimental study with post-test-only control group design of the 25 rats divided into five groups. DMBA 30 mg/kgBW single dose administered intraperitoneally to groups 2, 3, 4, and 5 then waited for 2 months, then groups 3, 4, and 5 mahkota dewa extract peroral dose of 24 mg, 48 mg, and 96 mg for 14 days. Breast tissue samples were taken for histopathological examination, the results showed an increase of the number of acini around intralobular ducts. Group 3, 4, and 5 showed the different average number of acini, however it can not be determined which dose of the mahkota dewa extract gives the best result.

**Keywords:** DMBA, mahkota dewa, number of acini, *Phaleria macrocarpa*.

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BUAH MAHKOTA DEWA (*Phaleria macrocarpa*) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PAYUDARA TIKUS PUTIH BETINA (*Rattus norvegicus*) GALUR Sprague dawley YANG DIINDUKSI 7,12-DIMETILBENZ( )ANTRASENA (DMBA)**

**Abstrak**

Karsingen kimia 7,12-dimetilbenz( )antrasena (DMBA) adalah anggota *polycyclic aromatic hydrocarbon* (PAH) yang memiliki sifat sitotoksik, karsinogenik, mutagenik, dan imunosupresif. DMBA berperan sebagai bahan karsinogen kuat dengan cara menghasilkan berbagai macam metabolit reaktif yang mengarah pada stres oksidatif. Penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah mahkota dewa terhadap histopatologi payudara tikus yang diinduksi DMBA. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni dengan pola *post test-only control group design* terhadap lima kelompok tikus. DMBA 30 mg/kgBB dosis tunggal intraperitoneal diberikan kepada kelompok 2, 3, 4, dan 5 dan ditunggu 2 bulan, kemudian kelompok 3, 4, dan 5 diberi ekstrak mahkota dewa dengan per oral dosis 24 mg, 48 mg, dan 96 mg selama 14 hari. Sampel jaringan payudara diambil untuk pemeriksaan histopatologi, hasilnya menunjukkan DMBA menyebabkan peningkatan jumlah asini di sekitar duktus intralobular. Kelompok 3, 4, dan 5 menunjukkan adanya perubahan rata-rata jumlah asinus, namun tidak dapat ditentukan berapa dosis ekstrak mahkota dewa yang memberikan gambaran terbaik.

**Kata kunci:** DMBA, jumlah asinus, mahkota dewa, *Phaleria macrocarpa*.

## Pendahuluan

Kanker termasuk salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia dan fakta menunjukkan bahwa jumlah kasus kanker terus meningkat (Depkes, 2013). Di regional Asia Tenggara, kanker membunuh lebih dari 1,1 juta orang setiap tahun. Berdasarkan Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) pada tahun 2010, di Indonesia kanker menjadi penyebab kematian nomor 3 dengan kejadian 7,7% dari seluruh penyebab kematian karena penyakit tidak menular, setelah stroke dan penyakit jantung (Depkes, 2013).

Di Amerika Serikat, kanker payudara merupakan kanker yang paling sering terjadi pada wanita tanpa memperhitungkan ras ataupun etnik, paling sering menyebabkan kematian pada wanita Hispanik dan merupakan penyebab tersering kedua kematian pada wanita kulit putih, hitam, Asia, dan Indian Amerika. Pada tahun 2010, 206.966 wanita dan 2.039 pria di Amerika Serikat didiagnosa dengan kanker payudara, sementara 40.996 wanita dan 439 pria meninggal dunia akibat kanker payudara (U.S. Cancer Statistics Working Group, 2013).

Upaya pengobatan yang ada saat ini, seperti pembedahan, kemoterapi, radiasi, hormonal dan terapi imunologik pembedahan, kemoterapi, radiasi, hormonal dan terapi imunologik (Budiman dkk., 2013) selain menghambat perkembangbiakan sel kanker juga memiliki dampak terhadap sel normal penderita dan menimbulkan efek samping yang membuat kondisi pasien menjadi tidak nyaman (Lisdawati, 2009).

Selain metode di atas, pengobatan kanker juga dilakukan menggunakan tanaman obat yang mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker (Sundaryono, 2011).

Di Indonesia, tanaman mahkota dewa juga telah digunakan secara luas oleh masyarakat sebagai terapi obat tradisional untuk berbagai macam penyakit

dan mempunyai banyak manfaat (Lisdawati, 2009). Beberapa penelitian telah dilakukan terkait kemampuan tanaman mahkota dewa sebagai tanaman obat. Namun demikian, belum terdapat penelitian yang dilakukan untuk melihat efek pemberian ekstrak mahkota dewa secara *in vivo* terhadap payudara tikus betina yang diinduksi dengan 7,12-dimetilbenz( )antrasena (DMBA). Maka dari itu, penulis melakukan penelitian untuk membuktikan apakah ekstrak etanol 70% buah mahkota dewa memiliki efek dalam menghambat perkembangan sel kanker payudara pada tikus putih betina galur *Sprague dawley* yang diinduksi dengan (DMBA).

## Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan metode acak terkontrol dengan pola *post test-only control group design*. Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus putih galur *Sprague dawley* berumur 5 minggu yang diperoleh dari laboratorium Balai Penelitian Veteriner (BALITVET) Bogor dan dibagi kedalam 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol normal, hanya yang diberi aquades 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 dmbo 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.

Proses pembuatan ekstrak buah mahkota dewa dalam penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut. Menurut penelitian yang dilakukan Arini dkk. pada tahun 2003, ekstrak etanol 70% mahkota dewa memiliki kandungan flavonoid tertinggi, yaitu sebesar 5,734 µg/mg. Semakin tinggi kadar flavonoid ekstrak daging buah mahkota dewa, maka aktivitas antioksidannya semakin besar.

Pembuatan ekstrak etanol buah mahkota dewa dilakukan sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Sulistianto dkk. pada tahun 2004. Menurut Sulistianto dkk., 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 (dua) 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.

Dosis ekstrak buah mahkota dewa pada eksperimen ini adalah 24mg/kgBB yang didapat dari dosis mencit pada penelitian sebelumnya yaitu 120 mg/kgBB (Rahmawati dkk, 2006) yang kemudian dikonversi ke dosis tikus terlebih dahulu.

Dosis mencit dikonversi dengan menggunakan rumus:

$$\text{HED} = \text{Animal dose (mg/kg)} \times \text{Animal Km/Human Km}$$

Ket: HED : *Human Equivalent Dose* (mg/kg)

Km : Faktor konversi (mencit: 3; tikus: 6; manusia: 37)

(Parvova *et al.*, 2011)

Dosis untuk 200 g tikus adalah 24 mg/200 g. Dalam penelitian ini kelompok kontrol negatif dan kontrol positif tidak diberikan ekstrak etanol 70% buah mahkota dewa. Dosis awal ekstrak etanol 70% buah mahkota dewa diambil dari dosis normal tikus, sedangkan dosis kedua diambil dari hasil pengalian 2x dosis pertama dan dosis ketiga diambil dari hasil pengalian 4x dari dosis awal. Jadi, dosis yang digunakan untuk tiap tikus pada kelompok III adalah sebanyak 24 mg/200 g, pada kelompok IV adalah 48 mg/200 g, dan pada kelompok V adalah 96 mg/g.

Ekstrak buah mahkota dewa diberikan secara peroral selama 14 hari, kemudian tikus dinarkose dan dilakukan pengambilan jaringan payudara, lalu dilakukan pembuatan preparat. Preparat diperiksa di bawah mikroskop cahaya

dengan perbesaran 400x dan dikirim ke laboratorium Patologi Anatomi untuk dikonsultasikan dengan ahli patologi anatomi.

## Hasil

Pada penelitian ini, kelompok 2 yang diinduksi dengan DMBA tanpa pemberian ekstrak mahkota dewa memberikan gambaran belum terjadinya kanker pada pemeriksaan mikroskopis sehingga peneliti memutuskan untuk mengevaluasi jumlah asinus perllobulus untuk melihat pengaruh induksi DMBA dan pemberian ekstrak mahkota dewa terhadap jaringan payudara tikus kelompok perlakuan.

**Tabel 1: Tabel rata-rata jumlah asinus perllobulus masing-masing preparat.**

Tikus	Rata-Rata Jumlah Asinus
Kelompok 1	8
Kelompok 2	11,6
Kelompok 3	6,4
Kelompok 4	10,6
Kelompok 5	7,6

Hasil pengamatan gambaran mikroskopik diuji dengan menggunakan uji statistik. Uji normalitas dengan Shapiro-Wilk memberikan hasil bahwa kelompok K1, K2, K3, dan K4 memiliki distribusi normal, sedangkan kelompok K3 memiliki distribusi data yang tidak normal, yaitu  $P=0,023$ .

Uji statistik yang digunakan untuk mengetahui apakah data homogen atau tidak adalah uji Levene. Dari uji ini diperoleh nilai  $p$  adalah 0,901 sehingga dapat disimpulkan bahwa data homogen.

Setelah dilakukan kedua uji di atas, diketahui bahwa data homogen, tapi sebaran data tidak normal, sehingga uji One-Way Anova tidak dapat dilakukan. Maka dilakukan alternatif uji One-Way Anova, yaitu uji Kruskal-Wallis (Dahlan, 2011). Dari hasil analisis data dengan menggunakan program statistik untuk Uji

Kruskal-Wallis diperoleh nilai p adalah 0,104, sehingga dapat disimpulkan bahwa pada uji statistik tidak terdapat perbedaan rata-rata jumlah asinus perlobulus pada tikus yang diinduksi dengan DMBA saja dibandingkan dengan tikus yang diinduksi dengan DMBA dan diberi ekstrak mahkota dewa.

## Pembahasan

Kelompok 2 yang diinduksi dengan DMBA tanpa pemberian ekstrak mahkota dewa memiliki jumlah asinus yang lebih banyak di sekitar duktus intralobular dan bentuk asinus serta lumennya yang tidak beraturan, yang disebut adenosis. Adenosis adalah sebuah perubahan yang ditandai dengan peningkatan jumlah asinus dan pelebaran duktus intralobular, sehingga meningkatkan diameter keseluruhan unit lobular (Cassali *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian yang telahvdilakukan oleh Chang *et al.* pada tahun 2013, bentuk lumen asinus yang tidak teratur dapat menunjukkan adanya suatu peningkatan proliferasi ataupun penurunan apoptosis yang mengarah kepada keganasan.

Selain bentuk lumen asini, banyaknya jumlah asini yang terdapat dalam satu lobus juga mengindikasikan adanya risiko ke arah keganasan. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh McKian *et al.* pada tahun 2009 yang menyebutkan bahwa wanita dengan kanker payudara memiliki jumlah asini dalam sebuah lobus yang lebih banyak dibandingkan dengan wanita tanpa kanker payudara. Selain itu, peningkatan jumlah asini juga terjadi pada wanita dengan riwayat kanker payudara dalam keluarganya, dan juga terjadi peningkatan jumlah asini pada jaringan payudara yang mengalami hiperplasia dibandingkan dengan jaringan payudara yang normal.

Pada penelitian ini, hasil menunjukkan bahwa pada pemberian ekstrak mahkota dewa terjadi beberapa penurunan jumlah asinus pada kelompok tikus yang diberi mahkota dewa pada dosis 24 dan 96 mg, sedangkan pada kelompok dengan pemberian ekstrak mahkota dewa 48 mg penurunan jumlah asinus tidak terjadi secara signifikan dengan jumlah asinus lebih dari kelompok 24 dan 48 mg.

Penelitian serupa untuk menguji efek kemopreventif terhadap karsinoma juga pernah dilakukan dengan menggunakan ekstrak mahkota dewa dosis 6,25, 12,5, dan 25 mg pada organ hati, ginjal, paru-paru, lambung, usus, dan jaringan limfatis. Pada penelitian tersebut, ditemukan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak mahkota dewa yang digunakan memberikan efek antikarsinogenesis yang semakin tinggi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Syukri dan Saepudin pada tahun 2008 ini, dosis ekstrak mahkota dewa yang paling efektif untuk digunakan sebagai agen antikarsinogenesis adalah 25 mg. Adanya perbedaan hasil penelitian ini dapat disebabkan oleh karena beberapa sebab seperti ekstrak yang digunakan adalah ekstrak kasar mengandung berbagai senyawa seperti fenol, flavonoid, tanin dan saponin, dimana senyawa ini dapat mempengaruhi satu sama lain dan mungkin memiliki efek antagonis, terjadi kesalahan pada saat pembuatan ekstrak sehingga tidak semua bahan aktif yang memiliki efek antikanker terdapat di dalam ekstrak, pemberian ekstrak mahkota dewa selama 14 hari terlalu singkat untuk dapat mengevaluasi efek antikanker dari ekstrak mahkota dewa (Rahmawati dkk., 2006) dan beberapa faktor lain yang mempengaruhi terjadinya kanker payudara dan yang mungkin turut berpengaruh atas hasil dari penelitian ini.

Faktor penyebab dari kanker payudara sampai saat ini belum diketahui secara pasti. Namun ada kemungkinan bahwa penyebabnya sangat multifaktorial yang kemudian saling mempengaruhi satu sama lain, yaitu faktor eksternal yang meliputi bahan-bahan kimia, radiasi, virus atau virogen dan lingkungan sekitar dan faktor internal yang meliputi faktor genetika, pengaruh hormon, sistem kekebalan tubuh, dan kondisi metabolisme tubuh (Nadhiroh, 2011). Faktor-faktor seperti bahan-bahan kimia, radiasi, dan lingkungan sekitar dalam penelitian ini telah diintervensi, namun faktor-faktor lainnya seperti pengaruh genetika, pengaruh hormon, maupun sistem kekebalan tubuh dan kondisi metabolisme tubuh tidak diintervensi, sehingga tidak menutup kemungkinan bahwa faktor-faktor tersebut turut berpengaruh dalam penelitian ini. Selain itu, pengaruh hormon, baik endogen maupun eksogen, dan riwayat keluarga atau genetik

memegang peranan penting terhadap terjadinya kanker payudara (Gandeng dkk., 2012).

Selain faktor genetik yang telah disebutkan di atas, faktor genetik lain seperti galur subjek penelitian dalam penelitian ini juga memerankan peranan penting. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Medina pada tahun 2010, terdapat tikus dengan galur inbrida yang memungkinkan pemilihan tikus dengan angka kejadian dan jenis kanker yang berbeda. Galur tikus inbrida yang telah dikembangkan dan memiliki sifat yang sangat rentan terhadap perkembangan kanker payudara yaitu galur C3H dan DBA. Kedua galur ini memiliki angka kejadian tumor yang tinggi, yaitu sebesar 0,70% pada tikus perawan dan tidak perawan, sehingga apabila induksi DMBA diberikan pada tikus galur ini maka besar kemungkinan akan terjadinya kanker payudara.

**Simpulan.** Pemberian DMBA selama dua bulan dengan dosis 30 mg/kgBB menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah asinus perllobulus pada jaringan payudara tikus putih betina, sedangkan pemberian ekstrak buah mahkota dewa secara oral selama 14 hari dengan perbedaan dosis memberikan efek yang berbeda-beda pada jumlah asinus perllobulus jaringan payudara tikus putih yang diinduksi dengan DMBA, namun pada uji statistik menunjukkan hasil yang tidak bermakna.

## Daftar Pustaka

- 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.
- Budiman A, Khambri D, Bachtiar H. 2013. Faktor yang mempengaruhi kepatuhan berobat pasien yang diterapi dengan Tamoxifen setelah operasi kanker payudara. Jurnal Kesehatan Andalas. 2(1): 20–4.
- Cassali GD, Lavalle GE, Nardi ABD, Ferreira E, Bertagnolli AC, Lima AE, Alessi AC, Daleck CR, Salgado BS, Fernandes CG, Sobral RA, Amorim RL, Gamba CO, Damasceno KA, Auler PA, Magalhães GM, Silva JO, Raposo JR, Ferreira AMR, Oliveira LO, Malm C, Zuccari DAPC, Tanaka NM, Ribeiro LR, Campos LC, Souza CM, Leite JS, Soares LMC, Cavalcanti MF, Fonteles ZGC, Schuch ID, Paniago J, Oliveira TS, Terra EM, Castanheira TLL, Felix AOC, Carvalho GD, Guim TN, Guim TN, Garrido E, Fernandes SC, Maia FCL, Dagli MLZ, Rocha NS, Fukumasu H, Grandi F, Machado JP, Silva SMMS, Bezerril JE, Frehse MS, Almeida ECPA, Campos CB. 2011. Consensus for the diagnosis, prognosis and treatment of canine mammary tumors. Brazilian Journal of veterinary Pathology. 4(2): 153–80.

- Chang J, Nicolau MM, Cox TR, Wetterskog D, Martens JMW, Barker HE, Erler JT. 2013. LOXL2 induces aberrant acinar morphogenesis via ErbB2 signaling. *Breast Cancer Research*. 15(67): 1–18.
- Depkes. 2013. Seminar sehari dalam rangka memperingati hari kanker sedunia 2013. Pusat Komunikasi Publik Sekretariat Jenderal Kementerian Kesehatan RI.
- Gandeng A, Cangara H, Achmad D, Arsyadi G. 2012. Hubungan ekspresi gata-3 dengan derajat histopatologi karsinoma payudara invasif duktal. *JST Kesehatan*. 4(2): 382–9.
- Lisdawati V. 2009. Kajian terhadap prospek pengembangan bahan bioaktif buah mahkota dewa (*P. macrocarpa*) sebagai kandidat *New Chemical Entity (NCE)* untuk pengobatan kanker (sitostatika). *Buletin Penelitian Kesehatan*. 1(37): 23–32.
- McKian KP, Reynolds CA, Visscher DW, Nassar A, Radisky DC, Vierkant RA, Degnim AC, Boughey JC, Ghosh K, Anderson SS, Minot D, Caudill JL, Vachon CM, Frost MH, Pankratz VS, Hartmann LC. 2009. Novel breast tissue feature strongly associated with risk of breast cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 35(27): 5893–8.
- Medina D. 2010. Of mice and woman: a short history of mouse mammary cancer research with an emphasis on the paradigms inspired by the transplantation method. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 10(2): 1–12.
- Nadhiroh AM. 2011. Faktor-faktor yang berhubungan dengan perilaku mahasiswa D-IV kebidanan tentang deteksi ini kanker payudara melalui pemeriksaan payudara sendiri (SADARI) di STIKES Insan Unggul Surabaya. *Jurnal Insan Kesehatan*. 2(0): 1–44.
- Parvova I, Danchev N, Hristov E. 2011. Animal models of human disease and their significance for clinical studies of new drugs. *Journal of Clinical Medicine*. 1(4): 19–29.
- Rahmawati E, Dewoto AR, Wuyung PE. 2006. Anticancer activity study of ethanol extract of mahkota dewa fruit pulp (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) in C3H mouse mammary tumor induced by transplantation. *Medical Journal Indonesia*. 4(15): 217–22.
- 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 ( $CCl_4$ ) secara oral. [Skripsi]. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret.
- Sundaryono A. 2011. Uji aktivitas senyawa flavonoid total dari *Gynura segetum* (lour) terhadap peningkatan eritrosit dan penurunan leukosit pada mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Exacta*. 2(9): 8–16.
- Syukri Y dan Saepudin. 2008. Aktivitas antikarsinogenesis ekstrak etanol daging buah mahkota dewa pada mencit yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2(6): 63–7.
- U.S. Cancer Statistics Working Group. 2013. United States Cancer Statistics: 1999–2010 Incidence and Mortality Web-based Report. Atlanta (GA): Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, and National Cancer Institute.