

EFEKTIVITAS EKSTRAK DAUN BENALU NANGKA (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh) DALAM MENCEGAH PERTUMBUHAN TUMOR PARU MENCIT BETINA

Dwi Nurahmanto¹, Edy Meiyanto²

¹Bagian Teknologi Farmasi, Fak. Farmasi Universitas Jember

²Bagian Kimia, Fak. Farmasi Universitas Gadjah Mada

ABSTRACT

Cancer was ranked first as the cause of death in all over the world. Chemopreventive sought from traditional preparations for example, various types of plant parasites. This study aims to determine the chemopreventive activity of aqueous extract of leaves of parasites jackfruit (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh) on the growth of lung tumors of mice (*Mus musculus*) female strain Balb / c induced benzo [a] pyrene. This research was conducted using the method Newborn Mice. Test animals used female mice (*Mus musculus*) strain BALB / c and benzo [a] pyrene as carcinogenic compounds. Female mice were divided into 5 groups. Cancer control group were injected with B [a] P were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO). Solvent control group was given the same volume of DMSO in the control of cancer. The treatment group was divided into three dose groups are a dose of 250, 500, and 750 mg / kg. Extract made after female mice induced B [a] P. Chemopreventive intensity expressed as percentage inhibition of tumors in each group by counting the number of tumor nodules on average per lung in each mouse organs within each group. Statistical analysis used is the analysis of Test homogeneity of variances and continued with Mann-Whitney Test. Parasite jackfruit leaf aqueous extract (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh) dose of I, II, and III were able to inhibit development into lung of female mice with the percentage inhibition respectively 50 %, 36.87 %, and 84.57 %.

Keywords : *M. cochinchinensis*, chemopreventive, lung cancer, Benzo[a]piren.

Korespondensi (Correspondence): Bagian Teknologi Farmasi Universitas Jember, Jalan Kalimantan I no. 2 Kampus Tegal boto, Jember (rahman_0124@yahoo.co.id)

Kanker menduduki peringkat pertama sebagai penyebab kematian di seluruh dunia. Pada tahun 2005 dari total 58 juta kematian di seluruh dunia 7,6 juta (atau 13%) disebabkan oleh kanker. Data Departemen kesehatan RI tahun 2006 menyebutkan kanker merupakan penyebab kematian ke-5 di Indonesia, setelah jantung, stroke, saluran pernafasan dan diare. Kanker paru merupakan jenis kanker yang menyebabkan kematian paling utama di dunia dengan (1,3 kematian/tahun) disusulkan ke perut dan ke hati.¹ Merokok (85% kasus terjadi pada perokok atau mantan perokok) mempunyai peran yang sangat penting terhadap terjadinya kanker paru². Zat-zat karsinogen yang terdapat dalam rokok antara lain naphthylamine, pyrene, toluidine, dibenzacridine, cadmium, benzo[a]piren, vinylclorida, dan polonium-210.³ Data yang tersedia mengenai mutasi *p53* secara jelas mengindikasikan adanya peningkatan frekuensi tranversi G T pada kanker paru dari perokok jika dibandingkan dengan non perokok dan jenis kanker yang lain. Ada korelasi yang kuat antara *mutational hotspot* dan *hotspot* pada pembentukan *adduct* yang disebabkan oleh PAH yang ditemukan dalam asap rokok.⁴ Kanker merupakan penyakit yang sebenarnya bisa dicegah. Salah satu jenis tanaman yang cukup menjanjikan dapat digunakan dalam terapan keradalah benalu. Penelitian menunjukkan pada dosis 2,44 mg/0,2 ml, isolat flavonoid herba benalu mangga (*Dendrothoepetandra*) mampu menghambat

pertumbuhan mencit ($p < 0,05$).⁵ Hingga saat ini belum ada penelitian *in vivo* mengenai kemampuan senyawa yang terkandung di dalam benalu nangka (*M. Cochinchinensis*) dalam menghambat perkembangan sel kanker khususnya ke paru. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian aktivitas benalu nangka (*M. Cochinchinensis*) khususnya ekstrak airnya dalam menghambat perkembangan sel kanker.

BAHAN DAN METODE

Ekstrak air dari daun tanaman *M. cochinchinensis* dalam bentuk ekstrak kering seperti kristal yang diperoleh dari LIPI Jakarta. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina (*Mus musculus*) galur Balb/c umur 2 bulan (sebagai induk) yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta. Hewan uji yang digunakan adalah anakan betina dari mencit betina tersebut.

Empat kelompok disuntik secara intraperitoneal dengan larutan benzo[a]piren dalam dimetilsulfoksida (DMSO) pada hari ke-1, ke-8, ke-15 setelah kelahiran dengan dosis masing-masing 0,2 mol; 0,4 mol; dan 0,8 mol. Volume penyuntikan setiap penyuntikan adalah 20 ml. Satu kelompok disuntik DMSO dengan dosis dan waktu yang sama seperti B[a]P sebagai kontrol pelarut DMSO. Pada umur 21 hari anak mencit bisa disapih dari induknya kemudian mencit jantan dan betina dikandangkan secara terpisah untuk

menghindari terjadinya perkawinan selama uji karsinogenisitas. Pada kali ini dipilih mencit betina sebagai hewan ujinya.

Mencit betina yang telah disuntik dengan B[a]P dibagi menjadi empat kelompok kelompok kesatu sebagai control kanker yang tidak mendapat perlakuan ekstrak air benalu nangka sampai akhir percobaan, kelompok kedua, ketiga, keempat diberi 250, 500, dan 750 mg/kg BB ekstrak air daun benalu nangka. Kelompok kedua, ketiga dan keempat diberi ekstrak air daun benalu nangka mulai hari ke-25, secara oral 2 kali seminggu selama 8 minggu. Kelompok kelima sebagai control pelarut, mencitbetina setelah disuntik intra peritoneal DMSO tidak diberi perlakuan apa-apa sampai 8 minggu. Jumlah mencit betina yang digunakan untuk masing-masing kelompok adalah 10 -15 ekor. Setiap minggu dilakukan penimbangan berat badan mencit untuk mengetahui perubahan *fed intake* pada masing-masing kelompok dan untuk menyesuaikan jumlah pemberian ekstrak.

Pembedahan hewan uji dilakukan setelah hewan uji berumur 4 bulan. Hewan uji dikorbankan dulu dengan cara dislokasi leher. Setelah hewan uji mati baru dilakukan pembedahan kemudian diambil jantung, paru, limpa, hepar, lambung, dan ginjal untuk diamati secara makroskopis ada tidaknya nodul tumor. Intensitas karsinogenesis dinyatakan sebagai jumlah mencit yang terkena tumor dalam setiap kelompok dan jumlah tumor per mencit dalam setiap organ. Pembedahan dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Jogjakarta.

Intensitas karsinogenesitas dinyatakan sebagai prosentase mencit betina yang terkena kanker pada setiap kelompok, prosentase penghambatan tumor, serta banyaknya nodul rata-rata per organ paru pada setiap mencit dalam setiap kelompok. Data yang diperoleh dibandingkan antar kelompok pelarut, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Data jumlah nodul masing-masing perlakuan dan control digabung dan dianalisis nilai rata-ratanya dengan menggunakan *Test Homogeneity of Variances* kemudian dilanjutkan

analisis Non parametric *Mann-Whitney Test* dengan taraf kepercayaan 95%. Data perbedaan perkembangan berat badan mencit antar kelompok dianalisis dengan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji *Tukey* (SPSS ver. 11.5).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Karsinogenesis

Uji karsinogenisitas B[a]P dilakukan dengan metode *Newborn Mice*. Metode ini memberikan harapan yang besar untuk terjadinya kanker pada hewan percobaan. Metode ini dipilih karena memiliki sensitivitas yang tinggi, dimana hewan uji yang digunakan adalah anak mencit yang baru lahir. Pada periode 4 bulan *post* induksi B[a]P, yaitu ketika mencit berumur 5 bulan, semua mencit betina dikorbankan dengan cara dislokasi leher. Mencit yang sudah mati dilakukan pembedahan kemudian diamati organ parunya untuk melihat adanya nodul tumor secara makroskopis. Pengamatan juga dilakukan pada organ lain seperti lambung, hati, limpa, ginjal, dan usus. Pengamatan secara makroskopis akan lebih jelas jika dilakukan 24 jam setelah organ diawetkan dalam larutan formalin 10%.

Pada pemeriksaan makroskopis umumnya ditemukan adanya nodul tumor yang berwarna putih keabuan, merupakan area padat, berbentuk lingkaran agak menonjol dengan diameter 0,25-1,75 mm. Penelitian secara mikroskopis dengan pengecatan hematoksillin-eosin (HE) pada nodul paru, menunjukkan adanya fokus tumor berupa massa padat dan memusat pada mencit betina yang memiliki fisiologis tumor (nodul)[6]. Penelitian ini membuktikan bahwa metode *new born mice* dengan senyawa karsinogen B[a]P, dapat digunakan sebagai model uji *in vivo* kanker paru pada mencit betina. Penelitian ini juga membuktikan bahwa mencit betina galur *Balb/c* sensitif terhadap agen karsinogen B[a]P dan cocok digunakan untuk metode *new born mice*.



Gambar 1. Gambar makroskopik organ paru mencit betina umur 4 bulan yang telah diinduksi B[a]P secara intraperitoneal. (a) organ paru normal tidak ditemukan nodul (b) organ paru kontrol benzo[a]piren. Tanda panah menunjukkan nodul berupa massa padat berwarna putih

Uji Penghambatan Karsinogenisitas Benzo[a]piren oleh Ekstrak Air Daun Benalu Nangka (*M. cochinchinensis*)

Uji penghambatan karsinogenisitas B[a]P oleh ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) dilakukan dengan mengorbankan mencit betina pada periode 4 bulan *post* induksi B[a]P. Ekstrak air daun benalu nangka diberikan selama 2 bulan *post* induksi B[a]P. Pemberian ekstrak tersebut diperkirakan mampu menghambat tahap-tahap karsinogenesis yaitu fase inisiasi, fase promosi dan fase progresi. Hasil uji penghambatan karsinogenisitas B[a]P oleh ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) dapat dilihat pada table I. Dari tabel I dapat dilihat bahwa kontrol DMSO tidak memiliki kemampuan menginduksi tumor. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO sebagai pelarut B[a]P bersifat tidak memiliki efek karsinogenik.

Kontrol B[a]P memberikan prosentase kejadian tumor 100%. Sedangkan kelompok B[a]P + dosis 250 mg/KgBB, kelompok B[a]P + Dosis 500 mg/KgBB dan kelompok B[a]P + Dosis 750 mg/KgBB secara berurutan adalah 80%; 81,8% dan 33,33%. Prosentase kejadian tumor pada kelompok kontrol B[a]P jika dibandingkan dengan prosentase kejadian tumor pada semua kelompok perlakuan ekstrak, maka dapat disimpulkan ekstrak memiliki efek penghambatan tumor paru pada populasi mencit betina. Untuk mempertegas pengaruh ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) dan mengetahui tingkat kerusakan organ paru, maka dihitung prosentase penghambatan tumor pada tiap-tiap kelompok. Prosentase penghambatan tumor dihitung dari selisih rata-rata jumlah nodul antara kelompok kontrol B[a]P dan kelompok yang ingin diketahui, kemudian dibagi dengan jumlah rata-rata nodul kelompok kontrol B[a]P. Prosentase penghambatan tumor yang semakin

besar menandakan tingkat kerusakan organ yang semakin kecil. Data tabel I menunjukkan, kontrol B[a]P tidak memberikan penghambatan tumor, sedangkan pada perlakuan obat dosis I (250 mg/KgBB) ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) memberikan penghambatan tumor sebesar 50% serta pada pemberian obat dosis II (500 mg/KgBB) dan dosis III (750 mg/KgBB) mampu menghambat terjadinya tumor sebesar 36,87% dan 84,57%.

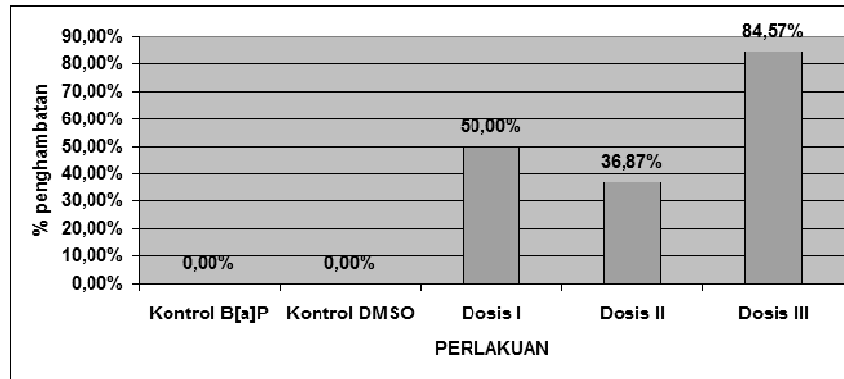
Prosentase penghambatan tumor tidak linier dengan dosis obat yang diberikan, terbukti obat dengan dosis I memiliki nilai lebih besar dari dosis II sedangkan dosis III memiliki prosentase penghambatan tumor yang terbesar. Ini berarti dosis III (750 mg/KgBB) merupakan dosis yang optimum dalam penghambatan tumor. Hasil tersebut berbeda dengan pengamatan secara mikroskopik menggunakan mAgNOR yaitu dosis 500 mg/Kg BB memberikan efek anti proliferasi paling poten terhadap mencit betina[6]. Hal ini mungkin disebabkan karena pengamatan mikroskopik menggunakan mAgNOR, jaringan organ yang diamati tidak dapat mewakili keseluruhan keadaan mencit yang ada dalam satu kelompok perlakuan.

Secara statistik, mencit betina yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini tidak memberikan respon yang homogen atau tidak terdistribusi homogen. Parameter homogenitas yang digunakan adalah angka signifikansi yang didapat dari *test homogeneity of variances* yaitu apabila nilai signifikansinya lebih besar atau sama dengan 0,05 ($>0,05$) untuk taraf kepercayaan 95%. Dari hasil uji statistik ini didapat nilai signifikansi *test homogeneity of variances* sebesar 0,000 ($<0,05$). Karena data yang dianalisis tidak terdistribusi homogen, maka digunakan metode analisis *Non-Parametrik Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

Tabel I. Hasil uji penghambatan karsinogenisitas benzo[a]pirena oleh ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*)

Kelompok	Jml Tikus (ekor)	Jml mencit terkena tumor	% Insidensi	Jumlah Nodul Rata2±SD	% Penghambatan
Kontrol B[a]P	10	10	100%	3,6±3,5339	0%
B[a]P + Dosis I	10	8	80%	1,8±2,0976	50%
B[a]P + Dosis II	11	9	81,8%	2,2727±2,3702	36,87%
B[a]P + Dosis III	9	3	33,33%	0,5556±1,0137	84,57%
Kontrol DMSO	14	0	0	0±0,0000	0%

Keterangan : Dosis I = 250 mg/KgBB Dosis II = 500 mg/KgBB Dosis III = 750 mg/KgBB



Gambar 2. Profil prosentase penghambatan terjadinya tumor karena induksi B[a]P oleh ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*)

Tabel 2. Hasil perhitungan uji Mann-Whitney dengan membandingkan kontrol B[a]P dengan kelompok perlakuan dan kontrol pelarut

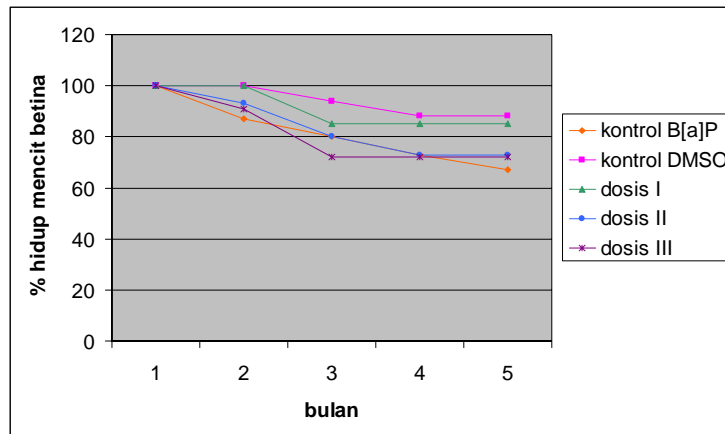
Kelompok (I)	Kelompok (J)	Signifikansi
Kontrol B[a]P	B[a]P + Dosis I	0,156
Kontrol B[a]P	B[a]P + Dosis II	0,233
Kontrol B[a]P	B[a]P + Dosis III	0,003*
Kontrol B[a]P	Kontrol Pelarut	0,000*
B[a]P + Dosis II	B[a]P + Dosis III	0,028*

Keterangan: *ada beda bermakna Dosis I= 250 mg/kgBB Dosis II= 500 mg/kgBB Dosis III=750 mg/kgBB

Berdasarkan tabel II, kelompok B[a]P dengan kelompok perlakuan B[a]P + dosis 500 mg/kgBB juga tidak memberikan perbedaan yang bermakna dengan angka signifikansi 0,233 ($>0,05$), sedangkan pada kelompok B[a]P dengan kelompok perlakuan B[a]P + dosis 750 mg/kgBB memberikan perbedaan yang bermakna yaitu dengan angka signifikansi 0,003 ($<0,05$). Perbedaan yang signifikan juga ditunjukkan pada perbandingan antara kelompok kontrol B[a]P dengan kelompok pelarut DMSO dengan angka signifikansi 0,000. Dengan hasil uji Mann-Whitney ini dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) hanya memberikan penghambatan tumor paru secara bermakna pada dosis 750 mg/kgBB, sedangkan pada peringkat dosis lainnya tidak memberikan hasil yang bermakna.

Pemberian obat dosis II memberikan perbedaan yang bermakna terhadap pemberian obat dosis III dengan angka signifikansi 0,028. Hal ini menandakan dosis optimum ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) yang dapat menghambat pertumbuhan tumor adalah Dosis III (750 mg/KgBB). Adapun profil prosentase hidup mencit betina pada masing-masing kelompok perlakuan dapat dilihat pada grafik yang tersaji

pada gambar 3. Pada gambar 3, memberikan tampilan umum dimana kelompok kontrol DMSO memiliki prosentase hidup mencit terbesar, yaitu pada bulan ke-5 memberikan prosentase hidup sebesar 88%. Pada grafik terlihat prosentase hidup menurun dengan urutan kontrol DMSO, perlakuan dosis 250 mg/kgBB (85%), dosis 500 mg/kgBB (73%), dosis 750 mg/kgBB (72%) dan kontrol B[a]P grafik paling bawah, memiliki prosentase hidup paling kecil dengan prosentase hidup mencit betina sebesar (67%). Daya tahan hidup mencit yang menurun selama penelitian berlangsung diperkirakan karena lingkungan tempat pemeliharaan yang tidak sehat dan karena adanya kanker dalam tubuhnya yang diakibatkan oleh B[a]P. Prosentase daya hidup mencit betina secara umum menggambarkan seberapa besar penghambatan tumor paru oleh ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*). Prosentase daya hidup mencit betina pada ketiga kelompok yang mendapat perlakuan secara umum jika dibandingkan dengan kontrol B[a]P tanpa perlakuan ekstrak, terlihat bahwa prosentase daya hidup kelompok perlakuan ekstrak lebih besar. Jika mencit betina mampu bertahan hidup selama 4 bulan, kemungkinan efek ekstrak air daun benalu nangka (*M. cochinchinensis*) dalam menghambat tumor ikut berperan di dalamnya.



Gambar 3. Profil prosentase daya hidup mencit betina setelah induksi B[a]P dan perlakuan ekstrak air daun benalu nangka dosis I (250mg/kgBB), dosis II (500mg/kgBB), dan dosis III (750mg/kgBB).

Metode *New Born Mice* merupakan metode uji karsinogenesis yang saat pemberian senyawa kemopreventifnya setelah induksi karsinogen B[a]P maka, mekanisme terjadinya kemopreventif terjadi setelah fase inisiasi (*post inisiasi*). Di lain pihak, karena hewan percobaan yang digunakan adalah anak mencit yang baru lahir (*new born mice*), enzim pemetabolisme *Cytochrome P450* (CYP) dan *Arylhydrocarbon Receptor* masih belum bekerja dengan maksimal.⁷ Akibatnya, saat memasuki tahap pemberian ekstrak dimungkinkan masih terjadi metabolisme B[a]P yang terakumulasi dalam tubuh menjadi *ultimate carcinogen* penyebab mutasi. Oleh karena itu mekanisme kemopreventif dapat terjadi pada fase inisiasi, promosi maupun progresi. Kemungkinan mekanisme adalah kemampuan ekstrak air daun *M.cochinchinensis* dalam menghambat aktivitas enzim *Cytochrome P450*. Telah dilakukan penelitian bahwa senyawa flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim *Cytochrome P450*.⁸

KESIMPULAN

Ekstrak air daun benalu nangka (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh) dapat memberikan efek kemopreventif pada kejadian tumor paru mencit betina yang diinduksi B[a]P. Prosentase penghambatan tumor paru pada mencit betina yang diinduksi benzo[a]piren paling besar adalah kelompok perlakuan dosis III (750 mg/KgBB) sebesar 84,57%. Sedangkan perlakuan dosis I (250 mg/Kg BB) dan II (500 mg/Kg BB) berturut-turut adalah sebesar 50% dan 36,87%.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim, 2006, *Cancer*, <http://www.who.int> diakses pada tanggal 20 Juni 2006.

2. Hecht, S.S., 1999, Tobacco smoke carcinogens and lung cancer, *J.Natl cancer Inst.*, **91**. 1194-1210.

3. Dalimartha, S., 1999, *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker*, Cetakan II, 1-30, Penebar Swadaya Press, Jakarta.

4. Hainut, P., dan Pfeifer, G.P., 2001, Patterns of p53 G-T transversions in lung cancers reflect the primary mutagenic signature of DNA-damage by tobacco smoke, *Carcinogenesis*, **22**, 3:367-374.

5. Sukardiman, Santa, IGP., dan Rahmadany, 1999, Efek Antikanker Isolat Flavonoid dari Herba Benalu Mangga (*Dendroptoe petandra*), *Cermin Dunia Kedokteran*, 122.

6. Setiawati, N., 2006, Aktivitas Antiploriferatif Ekstrak Air Daun Benalu Nangka (*Macrosolen cochinchinensis* (Lour.) van Tiegh) Terhadap Pertumbuhan Kanker Paru Mencit Betina Post Induksi Benzo[a]Piren : Kajian Histopatologi, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

7. Larsen, J.C., Alexander, J., Autrup, H., Barlow, S., Cerebelli, R., and Schlatter, J., 2002, *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - Occurrence in foods, dietary exposure and health effects*, Report European Comision Scientific Committee on Food, Brussels

8. Zhai, S., Dai, R., Friedman, F., dan Vestal, R., 1998, Comparative Inhibition Of Human Cytochromes P450 1A1 and 1A2 By Flavonoids, *Drug Metab. Disposition*, **26**, 10: 989-9