



PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN BUASBUAS (*Premna pubescens* Blume) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUSPUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI KANKER 7,12 Dimethylbenz[a]antrasena (DMBA)

Martina Restuati, Poppy Audina Nasution

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Medan
Email korespondensi: trestuati@gmail.com

Diterima: Juni 2019; Direvisi: Juli 2019; Disetujui: Agustus 2019

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume) terhadap perubahan sel hepatosit hati pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi DMBA. 25 ekor sehat (umur 3 bulan berat \pm 200 gr) diambil secara acak dan kemudian dibagikan dalam 5 kelompok: KN, KP, P1, P2, dan kelompok P3 dan diberi perlakuan selama 8 minggu. KN hanya diberi pakan dan aquades, KP hanya diberi DMBA 10mg/KgBB, P1 diberi DMBA 10mg/KgBB dan EEDBB 150mg/KgBB, P2 diberi DMBA 10mg/KgBB dan EEDBB 300mg/KgBB dan P3 diberi DMBA 10mg/KgBB dan EEDBB 450mg/KgBB. Uji ANOVA didapatkan perbedaan yang bermakna ($p=0,000$) terhadap semua kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah rata-rata kerusakan sel hepar pada KN ($1,62 \pm 0,40$) KP ($14,4 \pm 0,78$) P1 ($12,2 \pm 1,31$) P2 ($11,8 \pm 2,62$) P3 ($4,36 \pm 0,21$). Pada Uji *Post Hoc* LSD didapatkan perbedaan bermakna $p<0,05$. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun buas buas (*Premna pubescens* Blume) dapat menurunkan kerusakan sel hepar tikus yang diinduksi DMBA akibat kandungan antioksidannya.

Kata kunci : Daun buas buas (*Premna pubescens* Blume), Histopatologi, Hati, Tikus Putih, DMBA.

EFFECT OF EXTRACT ETHANOL LEAF OF BUAS BUAS (*Premna pubescens* Blume) TO THE HISTOPATOLOGY OF LIVER RATS WHITE (*Rattus norvegicus*) INDICATED CANCER 7,12 Dimethylbenz[a]antrasena (DMBA)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of extract ethanol leaf of buas buas (*Premna pubescens* Blume) on liver hepatocyte cell changes in rats white (*Rattus norvegicus*) induced by DMBA. 25 healthy animals (age 3 months \pm 200 gr weight) were taken randomly and then distributed in 5 groups KN, KP, P1, P2, and P3 and treated for 8 weeks. KN is only fed and distilled water, KP is only DMBA 10mg/kgBB. P1 is given a DMBA 10mg/kgBB and EEDBB 150mg/kgBB, P2 is given a DMBA 10mg/KgBB and EEDBB 300mg/KgBB and P3 is given a DMBA 10mg/KgBB and EEDBB 450mg/KgBB. ANOVA test found significant differences ($p=0,000$) in all groups. The results showed that the average of liver cell damage in KN ($1,62 \pm 0,40$) KP ($14,4 \pm 0,78$) P1 ($12,2 \pm 1,31$) P2 ($11,8 \pm 2,62$) P3 ($4,36 \pm 0,21$). In the *Post Hoc* LSD test it was found that extract ethanol leaf of buas buas (*Premna pubescens* Blume) can reduce rat liver induced cell damage a DMBA due to its antioxidant conte

Keywords: Buasbuas (*Premna pubescens* Blume), Histopathology, Liver, Rat (*Rattus norvegicus*), DMBA.

Pendahuluan

Kanker menjadi perhatian serius karena penyakit ini merupakan pembunuh nomor 2 setelah penyakit kardiovaskuler di Amerika

Serikat. Survei kesehatan rumah tangga di Indonesia tahun 2001 menunjukkan bahwa 6,5 persen dari total kematian disebabkan kanker dan berada pada peringkat ke-6 penyebab

kematian (American Cancer Society, 2011). Kanker hati merupakan kanker dengan insidensi kematian ketiga terbesar di dunia (Garcia dkk, 2007). Jumlah kematian di dunia yang disebabkan oleh kanker hati menunjukkan lebih dari satu juta kematian pertahun. Sedangkan di Amerika Serikat terdapat lebih dari 18.910 kematian yang disebabkan oleh kanker hati (NCI, 2009). Kematian akibat kanker hati diproyeksikan akan terus meningkat hingga tahun 2025 (Price dkk, 2006).

Hati merupakan salah satu organ viseral yang paling sering terkena penyebaran kanker (Kumar dkk, 2007). Sel-sel hati atau *hepatosit* mempunyai regenerasi yang cepat. Oleh karena itu hati akan dapat mempertahankan fungsinya apabila terjadi kerusakan yang ringan, akan tetapi akan menjadi fatal jika kerusakan menjadi berat dan serius. Penyebab tersering adalah akibat virus, efek toksik obat, racun, jamur dan lain sebagainya. Di Indonesia prevalensi belum diketahui secara pasti, tetapi menurut WHO penyakit hati ini menjadi penyakit endemik di Indonesia dan menjadi penyebab kematian yang tergolong tinggi (Depkes RI, 2007). Hati sebagai pendetoksifikasi racun bekerja dengan cara memecah senyawa beracun menjadi beberapa senyawa seperti urea, amonia dan asam urat (Supratanda, dkk, 2013). Karena fungsinya tersebut maka hati sangat rentan mengalami kerusakan karena zat-zat toksik.

Salah satu tanaman obat yang dikenal dimasyarakat Indonesia yaitu buasbuas (*Premna pubescens* Blume). Buasbuas ini terkenal dikalangan masyarakat dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Menurut (Restuati, 2014). Buasbuas (*Premna pubescens* Blume) memiliki berbagai macam kandungan metabolit sekunder yang menjadikannya sebagai salah satu tanaman yang bermanfaat sebagai obat-obatan. Penelitian ini berusaha menelaah aktivitas antikanker dari ekstrak etanol daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume) yang mengandung senyawa *luteolin* secara in vivo menggunakan tikus putih betina yang diinduksi dengan bahan karsinogen 7,12 dimethylbenz(α)antrasen (DMBA). Senyawa DMBA merupakan zat yang sering digunakan karena memiliki potensi yang

lebih tinggi dan lebih stabil sebagai zat karsinogen untuk pembuatan hewan model kanker.

Dengan demikian ekstrak etanol daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume) yang memiliki senyawa *luteolin* diharapkan dapat melindungi aktivitas karsinogenik senyawa 7,12 dimethylbenz (α) antrasen (DMBA). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan potensi daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume) terhadap aktivitas karsinogenik pada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi 7,12 dimethylbenz (α) antrasen (DMBA). Namun, pengujian kepada manusia terlalu berbahaya dan dilarang, sehingga peneliti ingin membuktikan efektifitas senyawa yang terkandung didalam daun buasbuas kepada tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) sehingga peneliti tertarik untuk meneliti tentang pengaruh ekstrak etanol daun buasbuas terhadap perubahan histopatologi hati tikus putih betina yang diinduksi senyawa diinduksi 7,12 dimethylbenz (α) antrasen (DMBA) (Kartawiguna, 2001).

Bahan Dan Metode

Waktu dan Tempat Penelitian. Penelitian ini dilaksanakan di rumah hewan percobaan FMIPA UNIMED. Selain itu penelitian ini juga dilakukan di RS. Adam Malik Medan. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 sampai Mei 2018. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non Faktorial. Jenis penelitian ini adalah Metode Eksperimental. Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah Analisis Varian (ANOVA) Non Faktorial.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan selama penelitian : Timbangan digital, tabung reaksi, rotary evaporator, waterbath, botol sampel, pengaduk magnetik, homogenizer, sonde oral, spuit, timbangan, labu erlenmeyer, blender, aluminium foil, toples kaca, tabung ukur (1000 ml), gelas ukur 1000(ml), kertas kasa Weatman beaker glass, pinset, botol sampel, mikroskop, kandang tikus dan dot tikus.

Bahan-bahan yang digunakan selama penelitian antara lain : Tikus putih betina (*Rattus norvegicus*), sekam tikus, pakan pelet

PC 202, CMC 1%, etanol 96%, Minyak jagung, DMBA. Klorofrom, formalin sebagai awetan preparat, hematoksilin dan eosin sebagai pewarna jaringan, alkohol series (70%, 80%, 90%, 95% dan absolute).

Berdasarkan uji pendahuluan yang telah dilakukan, maka peneliti melakukan 5 taraf perlakuan dalam penelitian. Dosis pemberian terdiri dari

- K_n : Kontrol negatif (-) hanya diberi pakan + aquades
- K_p : Kontrol positif (+) diberi pakan + aquades + DMBA 10mg/kg BB
- P_1 : Pakan + DMBA 10mg/kgBB + EEDBB 150mg/kgBB
- P_2 : Pakan + DMBA 10mg/kgBB + EEDBB 300mg/kgBB
- P_3 : Pakan + DMBA 10mg/kgBB + EEDBB 450mg/kgBB

Prosedur Penelitian

Penelitian ini diawali dengan pembuatan ekstrak etanol daun buah-buas, daun buah buas yang telah kering dihaluskan dengan blender dengan kecepatan 13000 rpm sampai daun buah buas halus seperti serbuk. Serbuk simplisia daun buah buas direndam didalam toples kaca besar dan ditambahkan pelarut etanol 96%.Kemudian hasil penyaringan diuapkan dengan rotary evaporator. Setelah kental dimasukkan kedalam cawan uap yang dibungkus dengan

aluminium foil selama semalaman, setelah itu diuapkan kembali hingga ekstrak kental.

Tikus sebanyak 25 ekor, dikelompokkan dalam 5 kelompok. Kontrol negatif (K_n), hanya diberi pakan dan aquades. Kontrol Positif (K_p) diberikan DMBA 10mg/kgBB dilakukan dengan cara injeksi subcutan dibagian tengkuk tikus dilakukan setiap 48 jam sekali sebanyak 10 kali selama 4 minggu. Perlakuan 1 (P_1) pemberian DMBA 10mg/kgBB dan EEDBB 150mg/kgBB, Perlakuan 2 (P_2) DMBA 10mg/kgBB dan EEDBB 300mg/kgBB, Perlakuan 3 (P_3) DMBA 10mg/kgBB dan EEDBB 450mg/kgBB,perlakuan diberikan secara peroral satu kali sehari selama 4 minggu. Selanjutnya tikus dianesthesia kemudian dilakukan euthanasia. Organ hepar dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin.

Gambaran kerusakan hepatosit tikus dilihat dengan melakukan pengamatan sediaan histopatologi menggunakanmikroskop dengan perbesaran 400x pada 5 lapangan pandangyang setiap lapangan pandang diamati berupa degenerasi bengkak keruh yang terjadi pada hepatosit. Skala degenerasi bengkak keruh kemudian dihitung secara semikuantitatif dalam 5 lapang pandang berbeda. Berikut ini adalah skala penilaian Kawasaki *et al.*9 dengan modifikasi seperti yang disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Skor Penilaian Derajat Degenerasi BengkakKeruh
Tingkat Perubahan **Skor**

| | |
|---|---|
| Tidak ada perubahan yang mengalami degenerasi bengkak keruh | 0 |
| 1-10% hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh | 1 |
| 10-33% hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh | 2 |
| 34%-66% hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh | 3 |
| 67%-100% hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh | 4 |

Hasil Dan Pembahasan

Dari hasil analisis mikroskopis gambaran kerusakan hepatosit tikus, didapatkan hasil rerata hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh dari 5 lapangan pandang kelompok uji dengan ekstrak

etanol daun buah buas (*Premna pubescens* Blume) berdasarkan *mean* dan standar deviasi ($X \pm SD$) pada K_N ($1,62 \pm 0,40$) K_P ($14,4 \pm 0,78$) P_1 ($12,2 \pm 1,31$) P_2 ($11,8 \pm 2,62$) P_3 ($4,36 \pm 0,21$) seperti yang terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. hasil rerata hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh dari 5 lapangan pandang kelompok uji dengan ekstrak etanol daun buas buas (*Premna pubescens* Blume)

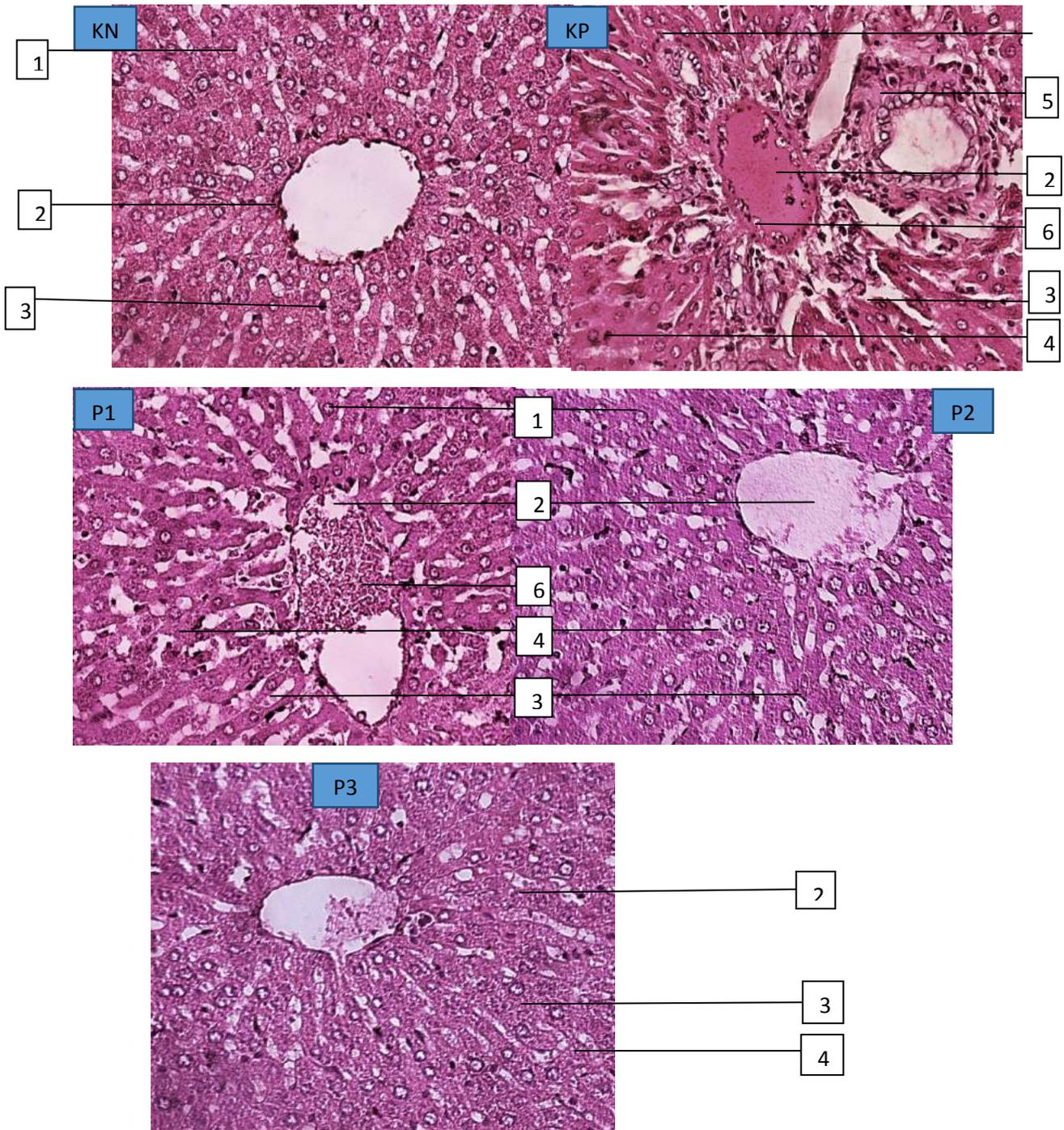
| Perlakuan | Skor Kerusakan Bengkak Keruh ($\bar{X} \pm SD$) |
|-----------|---|
| KN | 1,62 \pm 0,40 |
| KP | 14,4 \pm 0,78 |
| P1 | 12,2 \pm 1,31 |
| P2 | 11,8 \pm 2,62 |
| P3 | 4,36 \pm 0,21 |

Dari tabel 2 tampak peningkatan yang signifikan jumlah sel hepatosit yang mengalami pembengkakan pada KP jika dibandingkan dengan KN. Rerata jumlah sel hepatosit yang mengalami pembengkakan untuk P1, P2, dan P3 sangat menurun jika dibandingkan dengan KN.

Jika dibandingkan antara P3 dengan KN, sel hepatosit yang mengalami pembengkakan tidak berbeda jauh dan hampir mendekati gambaran histopatologi hepar normal. Rerata jumlah sel hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro-Wilk* dan didapatkan semua kelompok memiliki nilai ($p > 0,05$). Setelah dilakukan uji homogenitas dari data untuk mengetahui apakah data

homogen atau tidak didapatkan hasil $p = 0,018$. Hal ini menunjukkan bahwa data homogen karena nilai ($p > 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji statistik parametrik (*one way annova*).

Pada uji statistik *One way annova*, diperoleh nilai 0,000 atau ($p < 0,05$) yang artinya terdapat perbedaan jumlah sel radang yang bermakna antar kelompok. Analisis data dilanjutkan menggunakan analisis *Post Hoc LSD*. Nilai ini berarti menunjukkan bahwa tikus yang diberikan ekstrak etanol daun buas buas mampu memberikan efek protektif terhadap tumor hepar yang diinduksi oleh DMBA. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun buas buas (*Premna pubescens* Blume) memiliki efek kerusakan hati pada hepar tikus yang diinduksi DMBA.



Keterangan :

1. Hepatosit
2. Vena Sentralis
3. Sinusoid
4. Degenerasi Bengkak Keruh
5. Degenerasi Parenkimatosa
6. Kongesti

Gambar1. Histopatologi Pada Hepar Tikus Putih (*Rattus novergicus*) HE, 400x

Gambaran Histopatologi (KP) minum (HE, 400x),(KN) Kelompok Negatif
 Kelompok Positif hanya diberi pakan dan hanya diberi DMBA 10mg/KgBB selama 4

minggu, terlihat adanya degenerasi bengkak keruh pada sel hepatosit, sinusoid melebar (HE, 400x). Perlakuan 1 (P1) DMBA 10mg/kgBB dan EEDBB 150mg/KgBB selama 4 minggu, terlihat adanya degenerasi bengkak keruh pada sel hepatosit, dan penggumpalan darah pada vena sentralis atau disebut kongesti (HE, 400x), (P2) Perlakuan 2 (P2) DMBA 10mg/KgBB dan EEDBB 300mg/KgBB, terlihat adanya degenerasi bengkak keruh pada sel hepatosit (HE, 400x), Perlakuan 3 (P3) DMBA 10mg/KgBB dan EEDBB 450mg/KgBB terlihat adanya degenerasi bengkak keruh pada sel hepatosit dan adanya sedikit kongesti didalam vena sentralis (HE, 400x).

Hasil pengamatan histologi pada kelompok kontrol negatif (KN) menunjukkan hasil histologi hati yang normal. Pada kelompok kontrol positif (KP) DMBA 10mg/kgBB terjadi kerusakan yaitu degenerasi bengkak keruh (*cloudy swelling*) pada sel hepatosit, hal ini disebabkan karena infeksi zat kimia, terjadinya timbunan albumin sel hepar bengkak dengan sitoplasma berbutir keruh sehingga terjadi perubahan morfologis, serta degenerasi parenkimatososa yang ditandai dengan pembengkakan sel dan munculnya granul-granul dalam sitoplasma, kemudian ditandai dengan sinusoid melebar, pendarahan (kongesti) yang sangat hebat dan adanya nekrosis. Sedangkan pada kelompok P1 masih mengalami kerusakan degenerasi bengkak keruh dan sinusoid melebar namun secara morfologi masih adanya pendarahan (kongesti) tetapi tidak sehebat terjadi pendarahan pada kelompok positif. Selanjutnya pada kelompok P2 menunjukkan hasil histologi bahwa sel hepatosit menuju perbaikan, ditandai dengan berkurangnya kerusakan degenerasi bengkak keruh. Kemudian pada kelompok P3 mengalami perbaikan yang sangat signifikan. Karena pada preparat hati kelompok P3 ini perubahan degenerasi bengkak keruh terlihat sedikit dan nekrosis tidak ada lagi hampir mencapai kondisi normal.

Berdasarkan penelitian ini perubahan fisik yang dialami tikus putih pasca diberikan zat karsinogen DMBA mengalami kerontokan pada rambut tikus, hal ini diduga akibat adanya stres pada hewan uji. Kerontokan rambut terjadi satu hari pasca pemberian DMBA pada minggu ke 4, kemudian ditandai dengan luka di

daerah subkutan, serta hilangnya penurunan berat badan yang signifikan.

Daun buasbuas memiliki kandungan zat seperti flavonoid, alkaloid saponin dan fenolik, zat-zat tersebut dapat berfungsi sebagai antioksidan dan menghambat terjadinya inflamasi. Golongan flavonoid yang dominan terdapat pada daun buas buas antara lain *luteolin* dan *apigenin* yang memberi efek baik bagi kesehatan manusia. *Luteolin* memiliki peran yang penting bagi tubuh manusia diantaranya sebagai antioksidan, sedangkan efek antiinflamasi didukung oleh aksinya metabolit sekunder sebagai antihistamin. Beberapa penelitian menyatakan bahwa *luteolin* secara drastis dapat menurunkan gejala infeksi dan peradangan, sedangkan *apigenin* juga memiliki kemampuan sebagai zat anti kanker, antibakteri, mengatasi permasalahan lambung dan anti peradangan (Cadenas dan Packer, 2002).

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun buas buas memiliki efek antikanker terhadap sel hepar yang berfungsi menurunkan kerusakan sel-sel hepar. Antioksidan ini bekerja dengan menetralkan radikal bebas sehingga bisa mencegah kerusakan oksidatif lebih lanjut akibat akumulasi zat oksidan seperti DMBA. Pada sebagian besar biomolekul dari antioksidan menghasilkan efek proteksi terhadap kerusakan oksidatif secara signifikan (Sreelatha dan Padma, 2009).

Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Waji dan Sugrani, 2009). Dengan demikian kandungan senyawa daun buasbuas (*Premna pubescens* Blume) berpengaruh terhadap jumlah rata-rata kerusakan sel hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun buas buas (*Premna pubescens* Blume) memiliki efek sebagai antikanker hepar pada tikus yang diinduksi zat karsinogen DMBA. Hal ini

dikarenakan aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang terkandung. Pemberian perbedaan dosis ekstrak etanol daun buah buas (*Premna pubescens* Blume) 150mg, 300mg, dan 450mg berpengaruh dan mampu memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diinduksi DMBA yaitu semakin meningkatnya dosis, rata-rata jumlah hepatosit yang mengalami degenerasi bengkak keruh mengalami penurunan walaupun belum mencapai pada kondisi normal.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh induksi DMBA dalam pembuatan hewan model kanker pada organ-organ lain dan perlu dilakukan observasi lebih lanjut terkait dengan dampak induksi DMBA dalam pembuatan hewan model kanker pada hepar.

Daftar Pustaka

- American Cancer Society . 2011. *Breast Cancer Fact & Figures 2011-2012*.Atlanta : American Cancer Society, Inc.
- Depkes RI. 2007. Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta.
- Garcia, D, Quintana, J, Gonzalez, J, dan Garza,H, 2009. *Liver Cirrhosis And Diabetes: Risk Factors, Pathophysiology, Clinical Implications And Management*. *WorldJournal of Gastroenterology*, 15: 280-288.
- Kartawiguna, E. 2001.*Faktor-Faktor Yang Berperan Pada Karsinogenesis*. J. Kedokteran. Trisakti 20 (1) : 16
- Kumar, B., Harleen K.S., Sunil P., Prashant T., Manoj S., and P. Sharma. 2011. *A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids*, *Int.Pharma. Scientia*, 1, 1, 25-41.
- Restuati, Martina, Ilyas, syafruddin, Hutahaean, Salomo, Sipahutar, Herbert. 2014. *Study Of The Extract Activities Of Buah buas Leaves (Premna pubescens) As Immunostimulant On Rats (Rattus novergicus)*. *American Journal Of Bioscience* : Vol. 2, No. 6, ISSN : 2330-0159.
- National Cancer Institue. 2009. *Breast Cancer*.<http://cancerweb.ncl.ac.uk/cancer/100013.html>. 3 maret 2009.
- Packer, L. dan Cadenas, E., 2002.*Handbook of Antioxidants*, ed. 2, Marcel Dekker, Inc., New York
- Price, Sylvia A & Wilson.2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit*.Edisi 6 : Volume 2, Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- 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.
- Supratanda FE, Carolia N, Muhartono. 2013. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (Annona muricata Linn) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Hepar Tikus Putih (Rattusnorvegicus) Galur Sprague dawley yang Diinduksi DMBA*.ISSN 2337-3776.
- Waji RA, Sugrani A. 2009. *Makalah Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid(Quercetin)*.Makasar:Universita s Hasanuddin. hlm. 8-9.