

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN ANNONA MURICATA TERHADAP KADAR MALONDIALDEHYDE (MDA) DARAH TIKUS SPRAGUE-DAWLEY YANG DIINDUKSI 7,12 DIMETHYLBENZ[A]ANTHRACENE

Blasius Adrian Budianto¹, Eka Yudhanto², Ariosta³

¹ Mahasiswa Program Pendidikan S-1 Kedokteran Umum, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

² Staf Pengajar Ilmu Bedah Onkologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

³ Staf Pengajar Ilmu Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. H. Soedarto, SH., Tembalang-Semarang 50275, Telp. 02476928010

ABSTRAK

Latar Belakang : Kanker payudara adalah penyakit kanker yang paling sering diderita kalangan wanita di sebagian besar negara. Kanker payudara di Indonesia menyebabkan kematian sebesar 16,6 per 100.000 penduduk. Penyebab pasti dari kanker payudara masih belum diketahui. Senyawa 7, 12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) digunakan untuk menyelidiki karsinogenesis. Pengobatan kanker berkembang terus. Berbagai penelitian yang diteliti saat ini banyak menggunakan ekstrak tumbuhan sebagai terapi suportif kanker. Salah satunya adalah daun *Annona muricata* atau sirsak. MDA merupakan suatu marker kerusakan oksidatif. Kadar MDA pada pasien dengan kanker payudara akan mengalami peningkatan secara signifikan. Keberhasilan terapi pada pasien kanker payudara ditunjukkan dengan penurunan kadar MDA darah. **Tujuan :** Mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun *Annona muricata* terhadap kadar MDA darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene. **Metode :** Penelitian *true experimental randomized post-test only with control group design* pada tikus yang dibagi ke dalam dua kelompok yaitu kelompok perlakuan (P1) yang diberikan induksi DMBA dan kemudian diberikan ekstrak etanol daun sirsak melalui sonde lambung dengan dosis 200mg/KgBB/hari selama 12 hari dan kelompok kontrol (P2) yang diberikan induksi DMBA. **Hasil :** Rerata kadar *Malondialdehyde* pada kelompok P1 = 274,46±107,99 dan pada kelompok P2 = 243,21±97,41. Hasil uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro-Wilk* diperoleh data berdistribusi normal untuk kedua kelompok. Hasil uji *independent-samples T Test* menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna dengan nilai P = 0,52. **Kesimpulan :** Ekstrak etanol daun *Annona muricata* tidak berpengaruh terhadap kadar MDA darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene

Kata kunci : Ekstrak etanol daun *Annona muricata*, kanker payudara, 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene, malondialdehyde.

ABSTRACT

THE EFFECT OF ANNONA MURICATA LEAVES ETHANOL EXTRACT TOWARDS BLOOD MALONDIALDEHYDE (MDA) LEVELS IN SPRAGUE-DAWLEY RATS INDUCED BY 7.12 DIMETHYLBENZ [A] ANTHRACENE

Background : Breast cancer is the most common cancer among women in most countries. Breast cancer in Indonesia causes deaths of 16.6 per 100,000 population. The cause of breast cancer has not been known for certain. Compound 7, 12-Dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) is used to investigate carcinogenesis. Various studies under study today use a lot of plant extracts as supportive cancer therapy. One of them is the leaves of *Annona muricata* or

soursop. MDA is an oxidative damage marker. MDA levels will increase significantly in patients with breast cancer. The success of therapy in breast cancer patients is indicated by a decrease in blood MDA levels **Objective** : To investigate the effect of ethanol extract of *Annona muricata* leaves on malondialdehyde levels of blood of Sprague Dawley rats induced by 7,12-Dimethylbenz [a] anthracene. **Methods** : This study used true experimental randomized post-test only with control group design in rats divided into two groups: treatment group (P1) given DMBA induction and then given ethanol extract of soursop leaf through feeding tube with dose 200mg / KgBB / day for 12 days and control group (P2) given DMBA induction. **Results** : The average of Malondialdehyde levels in group P1 = $274,46 \pm 107,99$ and in group P2 = $243,21 \pm 97,41$. The result of normality test of data using Saphiro-Wilk test obtained normal distribution data for both groups. The result of independent-samples T Test showed no significant difference with $P = 0,52$. **Conclusions** : Ethanol extract of *Annona muricata* leaves had no effect on MDA levels of blood of Sprague Dawley rats induced 7.12-Dimethylbenz [a] anthracene

Keywords : *Annona muricata* leaves ethanol extract, breast cancer, 7.12-Dimethylbenz [a] anthracene, malondialdehyde.

PENDAHULUAN

Kanker payudara memiliki persentase kasus baru tertinggi dibanding dengan penyakit kanker yang lain. Angka kejadian kanker payudara pada perempuan di Indonesia sebesar 40 per 100.000 penduduk. Angka kematian akibat kanker payudara di Indonesia sebesar 16,6 per 100.000 penduduk.¹

Penyebab pasti dari kanker payudara masih belum diketahui. Beberapa faktor risiko diduga menjadi penyebab terjadinya kanker payudara. Riwayat reproduksi, obesitas, gaya hidup, konsumsi alkohol, diet atau intervensi medis jangka panjang seperti penggunaan kontrasepsi hormonal oral dihubungkan dengan kejadian kanker payudara.² Senyawa 7, 12-*Dimethylbenz[a]anthracene* (DMBA)

merupakan salah satu agen *Polycyclic Aromatic Hydrocarbon* (PAH) yang banyak digunakan untuk menyelidiki karsinogenesis.³

Pengobatan kanker payudara dapat dilakukan dengan kombinasi pembedahan dengan radioterapi, terapi sitostatika, terapi hormonal, terapi target hingga terapi biologis. Pengobatan kanker berkembang terus. Berbagai penelitian yang diteliti saat ini banyak menggunakan ekstrak tumbuhan sebagai terapi suportif kanker. Salah satu bahan alam yang digunakan adalah daun *Annona muricata* atau sirsak. Kandungan kimia daun *Annona muricata* berupa alkaloid, senyawa fenolik, dan beberapa kandungan lainnya termasuk senyawa *acetogenin*. Senyawa *Acetogenin*

diduga memiliki potensi sitotoksik terhadap sel kanker.⁴

Evaluasi diperlukan untuk menilai keberhasilan dari terapi kanker. Marker biokimia dapat digunakan untuk mengevaluasi keberhasilan terapi kanker pada tahap awal. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan biomarker hasil peroksidasi lipid oleh senyawa radikal bebas. Pasien dengan kanker payudara akan mengalami peningkatan kadar MDA secara signifikan. Keberhasilan terapi pada pasien kanker payudara ditunjukkan dengan penurunan kadar MDA darah.⁵⁻⁷

Penelitian terdahulu sudah banyak meneliti manfaat ekstrak daun *Annona muricata*, namun belum ada penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun *Annona muricata* terhadap kadar MDA darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi 7, 12-*Dimethylbenz[a]anthracene*. Oleh karenanya, peneliti bermaksud melihat pengaruh ekstrak etanol daun *Annona muricata* terhadap kadar MDA darah secara kuantitatif pada tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi 7, 12-*Dimethylbenz[a]anthracene*.

METODE

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true* eksperimental dengan *randomized post-test only with control*

group design, menggunakan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan randomisasi sederhana. Perlakuan yang diberikan adalah pemberian ekstrak etanol daun *Annona muricata*, sedangkan luaranya (*outcome*) adalah kadar MDA darah tikus *Sprague Dawley* betina diinduksi DMBA

Sampel yang digunakan adalah 20 tikus *Sprague-Dawley* yang terbagi dalam 2 kelompok, setiap kelompok berisi 10 ekor tikus. Kriteria inklusi sampel sebagai berikut : jenis kelamin betina, usia tikus 5 minggu, tikus terlihat sehat, bergerak aktif, dan tidak cacat fisik. Kriteria eksklusi sebagai berikut : tikus cacat dan mati selama penelitian dan tikus tidak mau makan dan minum yang telah disediakan.

Seluruh sampel diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, dengan pemberian pakan dan air minum standar. Tikus *Sprague Dawley* yang memenuhi kriteria inklusi kemudian diinduksi DMBA dengan dosis 20 mg/KgBB, 2 kali seminggu selama 5 minggu melalui sonde lambung. Selanjutnya tikus *Sprague Dawley* dibagi secara acak kedalam 2 kelompok. Kelompok perlakuan (P1) diberi pakan standar, air minum, dan diberi ekstrak etanol daun *Annona muricata* dengan dosis 200 mg/kgBB/hari selama 12 hari. Kelompok kontrol (P2) diberi pakan

standar dan air minum selama 12 hari. Kemudian pada hari ke-13 dilakukan pengambilan sampel darah.

Analisis data menggunakan uji normalitas *Saphiro-wilks*. Apabila data berdistribusi normal dilakukan uji *t-test* untuk menganalisis perbedaan antar kelompok sedangkan bila data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Mann Whitney U*, dengan nilai derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ pada interval kepercayaan 95%.

HASIL PENELITIAN

Pengambilan data dilakukan pada bulan Juni 2018. Jumlah sampel yang di analisis 18 sampel. Berat badan rata-rata tikus pada kelompok P1 = $138,74 \pm 8.13$ gram dan pada kelompok P2 = 139.25 ± 13.3 gram. Pada uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan sebaran data pada kelompok P1 normal dengan nilai kemaknaan $p = 0,340$ dan sebaran data pada kelompok P2 normal dengan nilai kemaknaan $p = 0,105$. Rerata kadar *Malondialdehyde* pada kelompok P1 = $274,46 \pm 107,99$ dan pada kelompok P2 = $243,21 \pm 97,41$

Tabel 1. Rerata, Standar Deviasi, dan Uji Shapiro-Wilk

Kelompok	Rata ± SD	Median (Min-Maks)	p
Berat badan			
P1(n=9)	$138,74 \pm 8,13$	135,95 (125,00-153,70)	
P2(n=9)	$139,25 \pm 13,3$	139,55 (122,80-158,10)	
Kadar MDA			
P1(n=9)	$274,46 \pm 107,99$	263,07 (152,39-462,03)	0,340*
P2(n=9)	$243,21 \pm 97,41$	189,58 (130,49-306,63)	0,105*

*Data berdistribusi normal ($p > 0,05$)

Hasil uji normalitas data yang ada menggunakan uji *Saphiro-Wilk* diperoleh data berdistribusi normal untuk kedua

kelompok. Karena data berdistribusi normal maka dilakukan uji *independent-samples T Test*. Hasil uji *independent-*

samples T Test menunjukkan tidak didapatkan perbedaan bermakna dengan nilai $P=0,52$.

PEMBAHASAN

Tanaman sirsak telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai pilihan obat tradisional untuk berbagai penyakit termasuk kanker.⁸ Ekstrak etanol daun sirsak dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan IC_{50} 2,0456 mg/ml dan secara *in vitro* bersifat sitotoksik selektif terhadap sel kanker.⁹ Ekstrak daun sirsak mampu menginduksi apoptosis pada sel kanker usus dan paru-paru melalui jalur mitokondria. Ekstrak daun sirsak memiliki efek antiproliferatif yang dikaitkan dengan penangkapan siklus sel pada fase G1.^{10,11} Ekstrak etanol daun sirsak juga menunjukkan efek menginduksi apoptosis pada sel leukemia K562 melalui aktivasi *caspase 3*.¹²

Pada penelitian ini tidak didapatkan perbedaan bermakna kadar MDA darah pada kelompok yang diberikan maupun tidak diberikan ekstrak etanol daun *annona muricata* selama 12 hari. Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan manfaat pemberian ekstrak etanol daun sirsak sebagai kemopreventif terhadap DMBA. Kusuma melaporkan pemberian ekstrak etanol daun sirsak

selama 4 minggu bersamaan dengan pemberian DMBA berpengaruh terhadap kadar MDA jaringan payudara.¹³

Ekstrak daun *Annona muricata* memiliki efek perlindungan terhadap kerusakan DNA yang disebabkan oleh DMBA. Pemberian oral ekstrak daun *Annona muricata* mungkin memiliki efek protektif terhadap perkembangan karsinogenesis payudara. Minari melaporkan pemberian ekstrak etanol daun *Annona muricata* bersamaan dengan induksi DMBA selama 6 minggu menunjukkan hasil yang signifikan dalam mencegah kerusakan DNA.¹⁴

Pada penelitian ini pemberian ekstrak etanol daun *Annona muricata* dilakukan pada saat post induksi DMBA. Pemberian DMBA menginduksi terjadinya kerusakan DNA yang kemudian menyebabkan munculnya kanker. Ekstrak etanol daun *Annona muricata* yang diberikan setelah induksi DMBA tidak menunjukkan perbedaan bermakna dalam perkembangan sel kanker. Sel kanker adalah penyakit pertumbuhan dan penyebaran sel yang tidak terkontrol karena merusak regulasi pembelahan sel normal.¹⁵

Sel kanker memiliki karakteristik yang berbeda dengan sel normal. Teori *hallmarks of cancer* menyatakan bahwa

proses perkembangan sel kanker dalam tubuh dipengaruhi oleh berbagai hal. Hanahan dan Weinberg menyatakan *Hallmark of Cancer* yaitu mempertahankan pensinyalan proliferatif, menghindari penekanan pertumbuhan, menghindari destruksi oleh sel imun, memungkinkan keabadian replikatif, peradangan mempromosikan tumor, mengaktifkan invasi dan metastasis, menginduksi angiogenesis, ketidakstabilan genom dan mutasi, melawan kematian sel, dan deregulasi pengaturan energi seluler.¹⁶

Oleh karena karakteristik sel kanker yang berbeda dengan sel normal, kebutuhan oksigen sel kanker yang meningkat dalam sel menyebabkan metabolisme di mitokondria meningkat. Meningkatnya metabolisme di mitokondria akan menyebabkan terjadinya peningkatan pelepasan dan akumulasi radikal bebas. Selain itu, sel kanker juga melakukan deregulasi pengaturan energi seluler. Sel kanker menggunakan jalur metabolisme aerobik glikolisis untuk memenuhi kebutuhan energinya. Jalur metabolisme ini menghasilkan energi 18 kali lebih rendah dibandingkan melalui jalur metabolisme aerobik biasa sehingga produksi radikal bebas di mitokondria meningkat yang akhirnya meningkatkan kadar MDA darah.¹⁶⁻¹⁸

Ekstrak etanol daun *Annona muricata* dikatakan dapat mencegah pertumbuhan sel kanker payudara melalui stabilisasi genom dan merangsang apoptosis sel kanker, namun tidak bisa menghentikan proses perkembangan sel kanker.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *Annona muricata* tidak berpengaruh terhadap kadar MDA darah tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi 7,12-*Dimethylbenz[a]anthracene*.

Saran

Perlu dilakukan uji kadar radikal bebas sebelum perlakuan dan juga dapat dilakukan penelitian untuk membandingkan efek pemberian ekstrak etanol daun *Annona muricata* bersamaan dengan induksi DMBA dan post induksi DMBA

DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi Kesehatan. Bulan Peduli Kanker Payudara. InfoDATIN. 2016. p. 2–6.
2. Kamińska M, Ciszewski T, Łopacka-Szatan K, Miotła P, Starosławska E.

- Breast cancer risk factors. *Prz Menopauzalny*. 2015;14(3):196–202.
3. Gao J, Lauer FT, Mitchell LA, Burchiel SW. Microsomal epoxide hydrolase Is required for 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) - Induced immunotoxicity in mice. *Toxicol Sci*. 2007;98(1):137–44.
 4. Wiart C. *Goniothalamus* species: A source of drugs for the treatment of cancers and bacterial infections? *Evidence-based Complement Altern Med*. 2007;4(3):299–311.
 5. A.Nath, Shailendra kumar, Chandan kumar Singh. Elevated lipid peroxidants in breast cancer patients. *IOSR J Pharm Biol Sci*. 2014;9(4):17–21.
 6. Abdel-Salam OME, Youness ER, Hafez HF. The antioxidant status of the plasma in patients with breast cancer undergoing chemotherapy. *Open J Mol Integr Physiol*. 2011;01(03):29–35.
 7. Sahu A, Varma M, Kachhawa K. A Prognostic Study of MDA , SOD and Catalase in Breast Cancer Patients. 2015;4(5):2013–5.
 8. Coria-Téllez A V., Montalvo-González E, Yahia EM, Obledo-Vázquez EN. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arab J Chem*. 2015;
 9. Gavamukulya Y, Abou-Elella F, Wamunyokoli F, AEI-Shemy H. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pac J Trop Med*. 2014;7(S1):S355
 10. Moghadamtousi SZ, Kadir HA, Paydar M, Rouhollahi E, Karimian H. *Annona muricata* leaves induced apoptosis in A549 cells through mitochondrial-mediated pathway and involvement of NF-κB. *BMC Complement Altern Med*. 2014;14(1):1–13.
 11. Zorofchian Moghadamtousi S, Karimian H, Rouhollahi E, Paydar M, Fadaeinasab M, Abdul Kadir H. *Annona muricata* leaves induce G1cell cycle arrest and apoptosis through mitochondria-mediated pathway in human HCT-116 and HT-29 colon cancer cells. *J Ethnopharmacol*. 2014;156:277–89.
 12. Ezirim AU, Okochi VI, James AB, Adebeshi OA, Ogunnowo S, Odeghe OB. Induction of Apoptosis In

- Myelogenous Leukemic K562 Cells by Ethanolic Leaf Extract of *Annona muricata* L. *Glob J Res Med Plants Indig Med.* 2013;2(3):1195–206.
13. Kusuma ASW. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Jaringan Payudara Tikus Putih Betina yang diinduksi 7,12 Dimetilbenz(α)antrasen (DMBA). Universitas Lampung; 2015.
14. Minari JB, Okeke U. Chemopreventive effect of *Annona muricata* on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice. *Egypt J Med Hum Genet.* 2014;15(4):327–34.
15. Hejmadi M. Introduction to Cancer Biology. 2nd ed. 2010. 7 p.
16. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011;144(5):646–74.
17. Poyton RO, Ball KA, Castello PR. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20(7):332–40.
18. Brown NS, Bicknell R. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer. Oxidative stress : its effects on the growth , metastatic potential and response to therapy of breast cancer. 2001