

**PENGARUH FRAKSI ETIL ASETAT EKSTRAK ETANOL 96%
AKAR PASAK BUMI (*Eurycoma longifolia* Jack) TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGIS HEPAR TIKUS BETINA *Sprague Dawley* YANG DIBERI KARSINOGEN
7,12-Dimetilbenz(a) antrasen (DMBA)**

Ratna Wijayatri

Fakultas Ilmu Kesehatan-Program Studi Farmasi-Universitas Alma Ata Yogyakarta
Jl. Ringroad Barat Daya No.1 Tamantirto Yogyakarta
Email: alaric.ratnawijaya@gmail.com

Abstrak

Eurycoma longifolia Jack adalah tanaman yang mempunyai Kandungan bioaktif dalam ekstrak air, butanol, metanol, dan kloroform yang terbukti memiliki efek antikanker secara *in vitro* pada berbagai *human cancer cell lines* seperti MCF 7, HepG2, Hela, dan CaOv-3. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (*E. longifolia* Jack) terhadap organ hepar yang telah diinduksi dengan DMBA.

Tikus galur *Sprague Dawley* berumur 1 bulan digunakan dalam penelitian ini dan dibagi dalam beberapa kelompok. Kelompok 1 merupakan kelompok kontrol positif (tamoksifen), kelompok II merupakan kontrol negatif (DMBA dalam *corn oil*), kelompok III,IV dan V merupakan kelompok perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (12,6 mg/kgBB, 25,2 mg/kgBB, dan 50,4 mg/kgBB), kelompok VI sebagai kontrol pelarut (*corn oil*), kelompok VII sebagai kontrol *baseline* (pakan dan minum). DMBA digunakan sebagai penginduksi tumor diberikan 2 kali seminggu selama 5 minggu dengan dosis 20 mg/KgBB pada minggu ke-3 sampai minggu ke-7. Fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi diberikan satu minggu sebelum pemberian DMBA dan selama pemberian DMBA.

Pada minggu ke-16 setelah pemberian DMBA terakhir organ hepar kemudian diamati baik secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil menunjukkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (*E. longifolia* Jack) pada dosis 25,2 mg/KgBB mampu melindungi hepar dari kerusakan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yaitu DMBA yang menunjukkan adanya kerusakan berupa radang, kongesti dan limfoblastik sel sekitar pembuluh darah.

Kata kunci : *Eurycoma longifolia* Jack, 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA), Hepar.

INFLUENCE OF ETHYL ACETATE FRACTION ETHANOLIC 96% EXTRACT OF *Eurycoma longifolia* Jack ROOT TO THE HISTOPATOLOGIC DESCRIPTION FROM LIVER OF FEMALE RATS *Sprague Dawley* STRAIN THAT INDUCED BY 7,12-DIMETHYLBENZ[A]ANTHRACENE (DMBA) CARCINOGEN

Abstract

Eurycoma longifolia Jack is a plant that content of bioactive compound in the water extract, butanol, and chloroform showed that they have anti cancer effect in the human cancer cell lines such as MCF 7, HepG2, Hela, and CaOv-3. The aims of the study is to look at the effect of ethyl acetate fraction of ethanolic extract 96% from *E. longifolia* Jack root to the liver that has been induced by DMBA.

Strain of *Sprague Dawley* rats aged 1 month used in this study and divided into several groups. Group I represents the positive control group (Tamoksifen), group II was negative controls (DMBA in corn oil), group III, IV and V is a variation of treatment group who were given ethyl acetate fraction of ethanolic extract 96% from the *E. longifolia* Jack root (12,6mg/Kg, 25,2mg/Kg, and 50,4mg/Kg), group VI as the solvent control (corn oil), group VII as a baseline control (food and drink). 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) is used as a tumour inductor given 2 times a week for 5 weeks with a dose of 20mg/kg at thirth week until seventth week. The ethyl acetate fraction of ethanolic extract 96% of *E. longifolia* Jack root given one weeks prior DMBA and during DMBA giving.

In the 16th week after the last giving of DMBA to the mouse, they were both observed macroscopically and microscopically. The result shows that the ethyl acetate fraction of ethanolic axtract 96% of *E. longifolia* Jack with dose 25,2mg/Kg capable to protect the liver from the damage. It is different with the negative control group which shows the presence of DMBA damage in the form inflammation, congestion and limfoblastic celc around blood vessels.

Keyword : *Eurycoma longifolia* Jack, 7,12-Dimethylbenz(a)anthracene (DMBA), liver.

Received: 10 Agustus 2017

Accepted: 4 Oktober 2017

PENDAHULUAN

Kanker merupakan suatu penyakit sel yang ditandai dengan hilangnya fungsi kontrol sel terhadap regulasi daur sel maupun fungsi homeostatis sel pada organisme multiseluler. Akibatnya, sel akan berproliferasi terus-menerus sehingga menimbulkan pertumbuhan jaringan yang abnormal yang menyebar dan menghancurkan organ-organ lain dan jaringan tubuh¹. *World Health Organization* mengatakan kanker hepar merupakan satu dari kanker terbesar yang menyebabkan kematian dan merupakan kanker dengan pertumbuhan tercepat.

Penyebab terjadinya kanker hepar bisa dikarenakan oleh metastasis kanker payudara². Selain metastasis juga bisa disebabkan antara lain karena mengkonsumsi

alkohol, sirosis, virus, radikal bebas dan karsinogen. Karsinogen merupakan agen yang telah diketahui penyebab terjadinya tumor. Senyawa karsinogen yang memerlukan metabolisme untuk menjadi metabolit karsinogen aktif salah satunya adalah *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*³. 7,12-dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) merupakan senyawa golongan PAH yang spesifik untuk kanker payudara⁴. DMBA juga mengalami aktivasi di hati sehingga membentuk karsinogen aktif yang dapat bereaksi dengan DNA⁵.

Pengobatan penyakit kanker yang utama seperti operasi dan penyinaran dipandang dari segi biaya pengobatan relatif cukup mahal dan kadang mempunyai efek samping yang tidak diinginkan. Melihat kenyataan tersebut diperlukan pencegahan terhadap penyakit kanker sedini mungkin mengingat akan bahaya kematian yang ditimbulkannya. Pilihan pengobatan baru yang aman, efektif dan selektif untuk penyakit kanker sangat penting untuk diusahakan⁶. Beberapa peneliti melaporkan bahwa bahan dari tanaman mempunyai potensi sebagai regulator negatif onkogen dan regulator positif gen *suppressor*, sehingga berpotensi sebagai agen antikanker⁷.

Salah satu tanaman obat yang diduga sebagai antikanker adalah akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack). Secara empiris di Malaysia digunakan sebagai obat kanker darah, hiperlipidemia, anti ulcer, antipiretik, juga sebagai hepatoprotektor⁸. Kandungan aktif akar pasak bumi ini telah berhasil diisolasi dan dibuktikan aktifitas farmakologinya oleh beberapa peneliti, salah satunya oleh Kuo *et al.*, (2003)⁹ diketahui bahwa senyawa kuasinoid yang mempunyai efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara yaitu senyawa 6-dehidrosilongilakton; lauricolacton; xanthin-6-on; 5, 6-dehidroeurikomalakton; pasakbumin B; pasakbumin C; iandonon. Senyawa yang berperan sebagai pemacu antitumor adalah 14,15 β -dihidroksiklaineanon¹⁰.

Hepar merupakan organ yang penting untuk mempertahankan hidup dan berperan pada hampir setiap metabolisme tubuh, terutama perannya dalam detoksifikasi terhadap obat dan agen berbahaya lain yang bersifat merusak tubuh³. Penggunaan akar pasak bumi yang mengandung kuasinoid, alkaloid juga flavonoid diharapkan merangsang pembentukan sel-sel hepar baru yang bertindak sebagai antioksidan, menghambat aktivitas radikal bebas sehingga membantu mengurangi atau melindungi hepar dari kerusakan serta kemungkinan metastasis dari kanker payudara. Oleh karena itu pemeriksaan secara mikroskopik penting dilakukan untuk melihat keadaan hati secara histopatologis

Berdasarkan data empiris dan latar belakang tersebut, perlu dilakukan penelitian terhadap organ hepar tikus yang diberi fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi dan karsinogen DMBA. Penelitian ini penting untuk dilakukan dalam rangka pengembangan obat alami khususnya tanaman pasak bumi sehingga mampu menjadi obat alternatif untuk penyakit kanker.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (*E. longifolia* Jack) adalah kertas saring, evaporator, alat-alat gelas, panci maserasi, corong *Buchner*, labu penghisap, pengaduk, kipas angin, penangas air, timbangan analitik, blender. Alat untuk perlakuan terhadap hewan uji adalah spuit injeksi oral 1ml dan 3 ml, seperangkat alat bedah (pinset, scalp, *blade*, gunting), neraca elektrik (Canon S45, Japan), mikroskop binokuler, kamera

Bahan tanaman yang diuji adalah simplisia akar pasak bumi (*E. longifolia* Jack), CMC Na sebagai pensuspensi ekstrak. DMBA untuk pembuatan model kanker, *Corn oil* sebagai pelarut DMBA, aquadest, formalin 10% sebagai larutan fiksasi organ, *Haematoxyllin Eosin* sebagai pewarna pengecatan histopatologi. Bahan kimia untuk pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% dari akar pasak bumi adalah Etanol 96%, etil asetat dan Aquabidest. Subjek uji yang digunakan adalah tikus galur *Sprague Dawley* umur kurang lebih 40 hari dengan berat badan 100-200 g. Tikus dipelihara dalam sangkar besi berukuran 50 x 30 x 20 cm, tiap sangkar berisi 15 ekor tikus, diberi makan pellet dan diberi minum secukupnya.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 3 tahap yaitu pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi *E. longifolia* Jack, uji karsinogenesis, dan perlakuan terhadap organ hepar meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis.

Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar *E. longifolia* Jack

Identifikasi Tanaman akar pasak bumi *E. longifolia* Jack

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Bagian Biologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Pembuatan serbuk simplisia

Bahan dikumpulkan dan dipilih yang tidak rusak. Akar dicuci dengan air mengalir, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung dengan ditutup kain hitam. Akar yang telah kering dihaluskan dengan cara diblender sampai didapat serbuk yang halus.

Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar *E. longifolia* Jack

Serbuk dari akar pasak bumi ditimbang sebanyak 1,2 kg, diekstraksi dengan etanol 96% sampai semua bahan terendam kemudian diaduk menggunakan mixer kurang lebih 3 jam dan dibiarkan sampai 24 jam atau sampai kira-kira semua senyawa yang terkandung dalam akar pasak bumi terlarut dalam etanol, maserasi dilakukan sampai hasil penyarian terlihat jernih. Hal ini menandakan bahwa penyarian sudah maksimal atau sempurna. Selanjutnya disaring dengan corong *Buchner* untuk memisahkan maserat dengan ampasnya, ampas dikeringkan dan maserat diuapkan di atas *waterbath* dengan suhu 65°C dibantu dengan kipas angin sambil diaduk sampai diperoleh ekstrak yang kental konstan dan tidak memberikan bau etanol dengan berat 21,8 gram. Ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan etil asetat dengan cara gerus tuang dan kemudian etil asetat diuapkan sampai tidak ada bau etil asetat lagi dan diperoleh ekstrak kental berwarna coklat terang, berminyak dan mempunyai bau khas aromatik selanjutnya disimpan dalam cawan porselin, ditutup dengan kertas aluminium dan disimpan dalam lemari es. Pembuatan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi dilakukan di laboratorium Fitokimia UAD.

Perlakuan Terhadap Hewan Uji

Persiapan hewan uji

Tikus yang digunakan adalah tikus betina galur SD (*Sprague Dawley*) yang berumur 1 bulan dengan berat sekitar 100-200 gram (umur dan berat diusahakan seragam). Tikus dipilih secara acak dibagi dalam 7 kelompok masing-masing 15 ekor tikus untuk setiap kandangnya. Tikus dipelihara dalam ruangan berventilasi yang cukup, makanan dalam bentuk pellet dan diberi minum secukupnya. Hewan diadaptasikan dalam kandang selama 1 minggu sebelum perlakuan.

Pembuatan larutan karsinogen (DMBA dalam *corn oil*)

Sejumlah 100 mg DMBA dilarutkan dalam 50 ml *corn oil*. Volume larutan DMBA yang akan diberikan pada tiap tikus akan berbeda sesuai dengan berat badan tiap tikus dengan cara mengkonversikan berat badan yang dikehendaki dengan berat badan tikus

200 g, sehingga jika larutan ini diberikan kepada hewan uji secara peroral tidak melebihi volume maksimal yang akan diberikan yaitu 2 ml untuk tikus dengan berat badan 200 g. Larutan DMBA dalam *corn oil* selalu dibuat baru, sebelum pemberian terhadap hewan uji, pelarutan dibantu dengan *vortex*.

Pembuatan larutan uji (ekstrak etanol 96% dalam CMC Na 0,5%)

Ekstrak etanol 96% akar pasak bumi sesuai dengan dosis dilarutkan dalam CMC Na 0,5% sehingga jika larutan ini diberikan kepada hewan uji secara peroral tidak melebihi volume maksimal yang diperbolehkan. Larutan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi dalam CMC Na 0,5% selalu dibuat baru sebelum pemberian terhadap hewan uji.

Induksi karsinogenesis dengan DMBA dan perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol akar *E. longifolia* Jack.

Tikus betina galur SD berumur 1 bulan dibagi menjadi 7 kelompok secara random. Masing-masing kelompok terdiri dari 15 ekor tikus; Kelompok III, IV, V, Merupakan kelompok perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi yang selama 2 minggu sebelumnya tikus diadaptasikan dan mendapat pakan kontrol, kemudian diberi fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi dosis 12,6 mg/kgBB, 25,2mg/kgBB, dan 50,4mg/kgBB selama 7 minggu dan diinduksi karsinogenesis dengan pemberian DMBA dalam *corn oil* dengan dosis 20 mg/kg BB secara peroral sebanyak 10 kali, yaitu seminggu 2 kali selama 5 minggu pada minggu ke 3 sampai minggu ke 7. Kelompok II: Merupakan kelompok kontrol DMBA yang selama 2 minggu sebelumnya tikus diadaptasikan dan mendapat pakan kontrol dan pelarut ekstrak (CMC Na), kemudian diberi DMBA sebanyak 10 kali, yaitu seminggu 2 kali selama 5 minggu pada minggu ke 3 sampai minggu ke 7. Kelompok V: Merupakan kelompok kontrol *corn oil* yang selama 2 minggu sebelumnya tikus diadaptasikan dan mendapat pakan kontrol, pelarut ekstrak dan diberi *corn oil* selama 5 minggu, yaitu dari minggu ke 3 sampai minggu ke 7. Kelompok VI: Merupakan kelompok Baseline yang hanya mendapat pakan kontrol dan minum saja kelompok I merupakan kelompok kontrol positif yang diberi tamoksifen dan DMBA.

Setelah pemberian DMBA yang terakhir semua tikus diberi pakan kontrol saja hingga akhir pengamatan yaitu minggu ke23. Tikus ditimbang setiap minggunya untuk

mengetahui perkembangan berat badannya, selanjutnya setelah minggu ke 23 tikus dikorbankan, dibedah, kemudian diambil organ hepar dan diamati secara makroskopis dan dibuat preparat histopatologis (mikroskopis).

Pemeriksaan histopatologis dengan metode pengecatan *Haematoxyllin* dan *Eosin* (H&E).

Pada akhir pengamatan dilakukan nekropsis terhadap hewan uji. Analisis histopatologi dilakukan terhadap organ hepar untuk mengetahui keadaan sitologinya serta tingkat keparahan tumor/kanker yang terjadi. Analisis mikroskopis dilakukan dengan mengamati sifat karsinogenisitas seluler pada jaringan yang diperiksa. Adapun proses pembuatan jaringan dan pengecatan H&E telah dilakukan di Balai Besar Penelitian Veteriner Wates. Prosedur yang dilakukan sesuai dengan petunjuk manual metoda diagnosa laboratoriu kesehatan hewan. Setelah dilakukan pengecatan H&E dilakukan pemeriksaan preparat di bawah mikroskop binokuler di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan UGM Yogyakarta dengan perbesaran antara (40x10) hasil langsung terekam di komputer.

Evaluasi hasil uji anti karsinogenesis meliputi pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dengan melihat organ hepar meliputi warna organ dan timbulnya nodul. Pengamatan mikroskopis meliputi keadaan sitologi organ hepar dari hasil pengecatan *Hematoxyline* dan *Eosine*. Preparat jaringan diamati secara deskriptif untuk mengetahui tingkat keparahan dari tumor hepar dan dibandingkan antara kelompok perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif serta kelompok *baseline* dan kontrol pelarut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Akar Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack)

Identifikasi akar pasak bumi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada. Berdasarkan hasil identifikasi dapat disimpulkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar tanaman pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) suku Simarubaceae.

Hasil Pembuatan Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol 96% Akar Pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack)

Ekstrak diperoleh dari 1,2 kg serbuk pasak bumi yang diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode perendaman dan pengadukan sehingga diperoleh ekstrak kental dengan berat 21,8 gram dan diperoleh rendemen 2,18% dari bahan awal. Hasil ekstrak etanol 96% akar pasak bumi digambarkan secara organoleptis yaitu berwarna coklat gelap pekat, berminyak, mempunyai bau yang khas, serta rasa yang pahit. Ekstrak kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan etil asetat dengan cara gerus tuang dan diuapkan hingga tidak berbau etil asetat lagi diperoleh ekstrak kental dengan warna coklat terang, berminyak dan berbau khas aromatic.

Induksi Karsinogen DMBA

Induksi karsinogenesis dilakukan dengan menggunakan 7,12-dimetil benz(a)antrasen (DMBA) yang merupakan golongan polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH). Hidrokarbon ini spesifik untuk pembuatan model tumor payudara, paru, kulit serta kanker hepar tikus. Hewan uji yang digunakan adalah tikus betina galur *Sprague Dawley* yang memiliki sensitifitas yang lebih tinggi terhadap karsinogen DMBA dari pada galur Wistar untuk pembuatan tumor dengan umur sekitar 40-60 hari, karena merupakan periode yang paling sensitif untuk karsinogen¹¹.

Prosedur tetap uji antikarsinogenesis *in vivo* dengan penggunaan DMBA telah ditetapkan oleh lembaga CCRC Universitas Gadjah Mada bahwa penetapan dosis dan frekuensi pemberian DMBA, berdasarkan penelitian terdahulu oleh Meiyanto *et al* (2007) yakni dosis 20 mg/kg BB 2 kali seminggu selama 5 minggu ditemukan insidensi tumor payudara mencapai 100 %. Oleh karena itu tumor hati pada penelitian ini dibuat melalui pemberian DMBA secara peroral dengan dosis 20 mg/kg BB sebanyak 2 kali seminggu selama 5 minggu secara peroral¹².

Pengamatan terhadap Hewan Uji dan Pemeriksaan Organ Hati

Pengamatan terhadap hewan uji

Pengamatan terhadap hewan uji dilakukan dengan melihat gambaran organ hepar secara mikroskopis kemudian dibandingkan antara kelompok kontrol negatif dengan perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi, dibandingkan juga dengan kontrol baik kontrol positif, kontrol pelarut dan kontrol pakan. Penelitian ini

dibagi dalam 7 kelompok perlakuan, tiap kelompok terdiri dari 15 ekor tikus betina *Sprague Dawley*. Kelompok tersebut meliputi 3 kelompok perlakuan dosis fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi dan pemberian DMBA, dosis masing-masing ekstrak (kelompok III dosis 12,6 mg/kg BB, kelompok IV dosis 25,2 mg/kg BB, kelompok V dosis 50,4 mg/kg BB), 1 kelompok sakit (kelompok II kontrol DMBA), 1 kelompok kontrol pelarut (kelompok VI kelompok kontrol *corn oil*), 1 kelompok sehat (kelompok VII, *baseline*) dan 1 kelompok (kelompok I kontrol positif yaitu diberi tamoksifen dan DMBA).

Pengamatan histopatologi organ hepar mulai dilakukan pada minggu ke-23 atau 16 minggu setelah pemberian DMBA terakhir. Pemeriksaan organ hepar dilakukan pada tikus yang tersisa dengan cara nekropsi, yaitu tikus dikorbankan menggunakan kloroform kemudian dilakukan pembedahan seluruh hewan, organ diambil dan dicelupkan di NaCl 0,9% fisiologis agar organ tidak mengalami perubahan fisiologis sebelum dimasukkan ke wadah yang berisi formalin 10%. Formalin digunakan sebagai pengawet untuk mempertahankan struktur jaringan dan untuk mencegah pembusukan sebelum dibuat preparat.

Organ diamati secara makroskopis dan mikroskopis untuk semua kelompok perlakuan. Hal ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya kerusakan pada organ hepar setelah diberi perlakuan menggunakan sediaan uji. Secara makroskopis organ hepar berwarna merah tua, berbentuk cembung. Pada organ hepar tikus tidak mengalami perubahan yang spesifik, hanya muncul nodul berwarna putih pada organ hepar beberapa tikus.

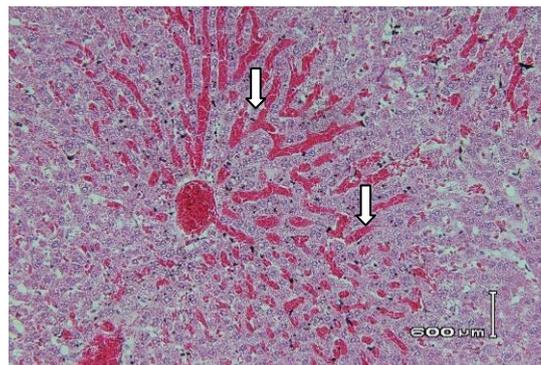
Pemeriksaan Histopatologis

Pengamatan terhadap adanya kejadian tumor dilakukan secara mikroskopis dengan membuat preparat dari organ yang diambil dan dilakukan pengamatan secara histopatologis untuk melihat adanya pembentukan tumor pada organ tersebut. Organ hepar yang telah diawetkan kemudian diproses dan dibuat dalam bentuk preparat organ. Preparat dari organ hepar yang diamati diwarnai dengan pewarna *hematoxilyne* dan *eosin*. *Hematoxilyne* akan berwarna biru ungu dan *eosin* akan berwarna merah muda.

Pemeriksaan histopatologis dilakukan untuk melihat apakah ada perbedaan antara kontrol pelarut, kelompok perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% *E. longifolia* Jack dengan berbagai dosis, dan kelompok kontrol negatif (DMBA).

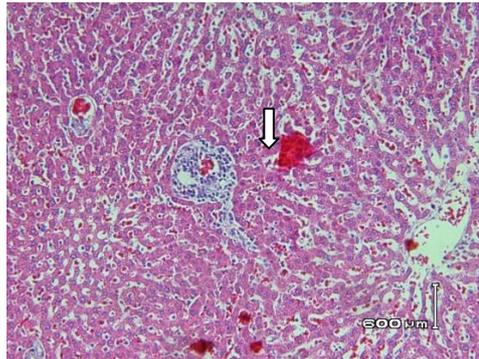
Hasil pemeriksaan histopatologis organ hepar pada minggu ke-23 pada kelompok VII (*baseline*) dari tikus yang diamati tidak terjadi perubahan patofisiologis yang spesifik, vena sentralis terlihat utuh dengan sel-sel endotelium tersusun rapat, hepatosit tersusun secara radier ke arah vena sentralis, sel-sel hepar terlihat jelas, dan tersusun normal. Hal ini sesuai dengan yang digambarkan oleh Helmi *et al.*, 2007¹³.

Kelompok II (kontrol DMBA) secara mikroskopis ditemukan adanya kerusakan sel yaitu terjadi 1 tikus mengalami radang hepar (Gambar 1), 1 tikus terjadi kongesti (Gambar 2), dan 1 tikus mengalami limfoblastik di sekitar pembuluh darah (Gambar 8). Radang hepar biasanya mengawali terjadinya kongesti.

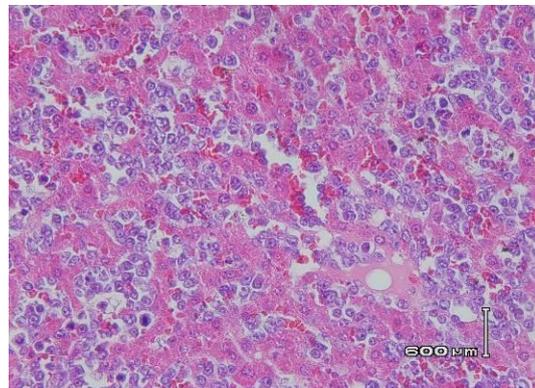


Gambar 1. Gambaran histopatologis hepar tikus perbesaran 40x10 pada kelompok *corn oil* yang mengalami kongesti di sinusoid (↓). Kongesti juga terjadi pada Kelompok tamoksifen, pemberian DMBA, kelompok III (perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% *E. longifolia* Jack dosis 12,6mg/kgBB), kelompok V (perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% *E. longifolia* Jack dosis 50,4mg/kgBB).

Kelompok VI (*corn oil*) pada beberapa tikus juga tidak terjadi perubahan patofisiologis, tetapi ditemukan 1 tikus mengalami kerusakan organ, yaitu terjadi kongesti pada sinusoid. Sinusoid adalah tempat mengalirnya darah yang nantinya akan ditampung oleh vena sentralis¹⁴.



Gambar 2. Gambaran histopatologis organ hepar tikus perbesaran 40x10 pada kelompok II (DMBA 20mg/kgBB) yang mengalami peradangan disekitar pembuluh darah (↓).



Gambar 3. Gambaran histopatologis kelompok II (DMBA) yang mengalami limfoblastik (↓). Keadaan ini juga terjadi pada perlakuan kelompok III (perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% *E. longifolia* Jack dosis 12,6mg/KgBB) dan kelompok V (perlakuan fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% *E. longifolia* Jack dosis 50,4mg/KgBB)

Kongesti terjadi karena rongga sinusoid membesar disebabkan terjadi perfusi yang kuat dan rusaknya hepatosit. Hal ini bisa terjadi akibat banyaknya konsentrasi toksikan dalam darah yang disalurkan ke sinusoid sehingga menyebabkan kerusakan pada sinusoid. Dinding sinusoid terdiri dari sel-sel endotel yang membentuk lapisan tidak utuh, celah subendotel yang mengandung banyak mikrovili menjadi batas antara hepatosit dan sinusoid sehingga memudahkan terjadinya perpindahan senyawa toksikan¹³. Kongesti adalah terjadinya pembendungan darah pada hepar yang disebabkan adanya gangguan sirkulasi yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen dan zat gizi. Pada sel hepar, kongesti didahului dengan pembengkakan sel hepar dimana sel hepar membesar yang mengakibatkan sinusoid menyempit sehingga aliran darah terganggu. Hal ini menyebabkan terjadinya pembendungan darah pada beberapa tempat⁸.

Limfoblastik merupakan indikasi terjadinya kanker dari pembuluh darah. Adanya limfoblastik ini diduga diakibatkan oleh pemberian DMBA. Menurut Shawn (2000) limfoblastik bisa diakibatkan karena terpapar oleh suatu Polisiklik Aromatik Hidrokarbon. Selain itu disebutkan juga bahwa sitokrom P4501B1 menjadi perantara terjadinya sel preleukimia yang diinduksi dengan DMBA¹⁵. DMBA juga mengalami aktivasi di hepar menjadi senyawa karsinogen yang bisa berikatan dengan DNA di hepar sehingga bisa menyebabkan kerusakan di hepar. Terjadinya limfoblastik ini terlihat pada organ hepar kelompok II atau perlakuan DMBA dan kelompok I yang diberi tamoksifen dan DMBA. Tamoksifen merupakan salah satu obat anti kanker yang bersifat hepatotoksik¹⁶. sehingga dengan adanya pemberian DMBA tidak bisa menjaga hepar dari kerusakan dan terjadinya limfoblastik di sekitar pembuluh darah di hepar.

Pengaruh pemberian fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (*E. longifolia* Jack) pada dosis pemberian 25,2 mg/KgBB dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu perlakuan DMBA dapat dikatakan mampu melindungi organ hepar dari kerusakan dilihat dari gambaran histopatologi organ hepar pada perlakuan ekstrak dosis 25,2 mg/KgBB yang tetap dalam kondisi normal, sedangkan pada pemberian DMBA ditemukan kerusakan organ hepar berupa kongesti dan limfoblastik sel. Ditemukan juga pada kelompok kontrol positif yang diberi tamoksifen serta perlakuan dosis 12,6 mg/KgBB dan perlakuan dosis 50,4 mg/KgBB yang masih menunjukkan terjadinya kongesti, limfoblastik dan radang.

Pemberian ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (*E. longifolia* Jack) yang mengandung flavonoid, kuasinoid dan alkaloid diharapkan dapat menghambat terjadinya metastasis kanker payudara ke berbagai organ. Senyawa golongan kuasinoid yang aktif sebagai antitumor antara lain 14,15 β -dihidroksiklaineanon dengan IC₅₀ = 5 μ M¹⁰.

Senyawa golongan flavonoid mampu menghambat proses karsinogenesis baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Senyawa karsinogen seperti polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH) memerlukan aktivasi oleh enzim sitokrom P450 membentuk intermediate yang reaktif sebelum berikatan dengan DNA. Ikatan kovalen antara DNA dengan senyawa karsinogen aktif menyebabkan kerusakan DNA. Flavonoid dalam proses ini berperan sebagai agen pencegah tumorigenesis. Pengeblokan aksi karsinogen dapat

melalui beberapa mekanisme antara lain melalui inhibisi aktivitas isoenzim sitokrom P450 sehingga senyawa karsinogen tidak reaktif¹⁷.

Metastasis merupakan proses penyebaran tumor ganas dari tempat asalnya (*tumor primer*) untuk membentuk tumor lain pada tempat yang jauh (*tumor sekunder*)¹⁸. Senyawa DMBA yang diinduksikan pada tikus belum terlihat adanya metastasis ke organ hepar karena belum ditemukan tikus yang mengalami kanker payudara pada pemberian DMBA. Tidak munculnya kanker bisa diakibatkan karena faktor dari keadaan tingkat stressing yang dialami tikus selama perlakuan sehingga mempengaruhi kerja DMBA. Kerusakan organ hepar disebabkan oleh DMBA yang mengalami aktivasi di hepar sehingga membentuk karsinogen aktif yang dapat bereaksi dengan DNA, akibatnya fungsi hepar menjadi terganggu terutama dalam hal detoksifikasi agen berbahaya. Pengaruh pemberian ekstrak akar pasak bumi pada penelitian ini dapat melindungi hepar dari kerusakan organ pada dosis 25,2 mg/KgBB dimana terlihat gambaran histopatologi yang masih dalam keadaan normal jika dibandingkan dengan gambaran histopatologis organ hepar pada kontrol negatif yaitu perlakuan yang hanya diberikan DMBA saja yang mengalami berbagai kerusakan seperti terjadinya peradangan, kongesti, dan limfoblastik sekitar pembuluh darah pada organ hepar.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengamatan organ hepar secara makroskopis dan mikroskopis hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat ekstrak etanol 96% akar pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) dosis 200 mg/KgBB mampu melindungi organ hepar dari kerusakan akibat pemberian DMBA sebagai penginduksi kanker payudara.

Daftar Pustaka

1. Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, p., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Zipursky, S.L., Darnell, J. 2004. *Molecular Cell Biology*, 5th edition. WH Freeman. New York.
2. Feldman, P., Ralph, M., Inna, N., Sarel. H., Ofer, N., 2002, Metastatic Breast Cancer to the Bladder a Diagnostic challenge and Review of the literature, *ScienceDirect-Urology*, **59**, 138
3. Underwood, J.C.E, 2000, *Patologi Umum dan Sistemik*, ed 2, vol 2, diterjemahkan oleh Sarjadi, Penerbit Kedokteran EGC, Jakarta, 6, 69, 75-76, 273-280.
4. Dandekar, S., Sukumar, S., Zaeld, H., Yuong, L.J.T., Cardiff, R.D., 1986, Specific Activation of The Cellular Harvey-ras Oncogen in Dimethylbenzanthracene Induced Mouse Mammary Tumors, *Molecular and Cellular Biology*, **6**, 11, 4104 – 4108
5. Singletary, K., MacDonald, ., Iovinelli, M., Fisher, C., Wallig, M., 1998, *Effect Of The Beta-Diketones Diferuloylmethane (Curcumin) And Dibenzoylmethane On Rat Sacher*,

- Tinjauan Klinis hasil Pemeriksaan Laboratorium, diterjemahkan oleh Bram U.P dan Dewi N, ed 11. EGC Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
6. Gibbs, JB., 2000, Anticancer Drug Targets: Growth Factor and Growth Factor Signaling, *J. Clin. Inves*, 9-13.
 7. Asyhar, R., Febriansah, R. A., Ashari, R., A. Susidarti., E. Meiyanto, 2009, Modulasi ekspresi protein n-ras ekstrak etanolik rumput mutiara (*Hedyotis corym-bosa*) pada sel hepar tikus galur *Sprague dawley* terinduksi 7,12-dimetilbenz[a]antra-sena, Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC), Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
 8. Panjaitan, R.G.P. 2008, Pengujian Aktivitas *Hepatoprotektor* Akar Pasak Bumi, Program Studi Biologi Sekolah Pascasarjana IPB, Bogor, dipublikasikan melalui <http://www.journal.iu.ac.id>, diakses pada tanggal 13 Februari 2010
 9. Kuo, P.C., Damu, A.G., Leeb, K.H., and Wua, T.S., 2004, Cytotoxic and antimalarial Constituen from The Roots of *Eurycoma longifolia*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 12, 537-544
 10. Jiwajinda, S., Vilai, S., Akira, M., Masanori, K., Hiromu, K., Monique, G., Riad, E., Guy, B., Hajime, O., 2002, In vitro anti-tumor promoting and anti-parasitic activities of the quassinoids from *Eurycoma longifolia*, a medicinal plant in Southeast Asia, *Journal of Ethnopharmacology* 82. 55-58
 11. Kubatka, P., Ahlersova E., Ahlers I. Bojkova B., Kalicka K., Adamekova E., Markova M., Chamilova M., Cermakova M., 2002, Variability of Mammary Carcinogenesis Induction in Female Sprague-Dawley and Wistar: Hans Rats: the Effect of Seasons, *Physiology Research*, 51, 633-640.
 12. Meiyanto, E., Susilowati, S., Murwanti, S.T.R., Sugiyanto, 2007, Efek Kemopreventif Ekstrak Etanolik Daun *Gynura procumbens* (Lour) Merr terhadap Kanker Payudara Tikus yang Diinduksi 7,12-Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA), *Majalah Farmasi Indonesia*, 18, 3, 154 – 161
 13. Helmi, A., Ice, W., Netty, M., 2007, Pengaruh Pemberian Akut Ekstrak Etanol Daun Capo (*Blumea balsamifera* (L) DC) terhadap Gambaran Morfologis dan Histologi Hati Mencit Putih Jantan, *Jurnal Sains Teknologi Farmasi*, Universitas Andalas. 82-88
 14. Fawcett. D. W., M., D, 2002, *Buku Ajar Histologi*, edisi VII, alih bahasa J. Tembayong. Kedokteran EGC. Jakarta
 15. Shawn, M., Heidel., Peter, S., MacWilliams., William, M., Baird, W., Mohaiza D., Jeroen T, M., Buters., Frank, J., Gonzales., Michele, C., Larsen., Charles, J., Czuprynski., and Colin, R., 2000, Cytochrome P4501B1 Mediates Induction of Bone Marrow Cytotoxicity and Preleukimia Cells in Mice Treated with 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene, *Cancer Research*, 60; 3454-3460
 16. Arzu, 2006, *Drugs That Cause Liver Damage*, dalam <http://hnz11.wordpress.com>. *drugs and liver damage* diakses pada tanggal 13 Maret 2010
 17. Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L., 2003, Flavonoids: Promising Anticancer Agents, *Medicinal Research Review*, 23(4) 519-534
 18. Anne, C., Chiang, M.D., Joan Massague., 2008, Molecular Basis of Metastasis. Review artikel *Molecular Origin of Cancer*, (26) 359: 2814-2823