

EFEK HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK ETANOL DAUN KENIKIR (*Cosmos caudatus* Kunth.) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI DOKSORUBISIN

Junvidya Heroweti ^{*}, Ibrahim arifin , Nurul Arlin Hidayati

Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

*email: junvidyaheroweti@gmail.com

ABSTRAK

Doksorubisin merupakan agen kemoterapi yang mempunyai efek samping hepatotoksik dengan cara pembentukan radikal bebas. Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) memiliki potensi untuk mencegah efek hepatotoksik akibat penggunaan doksorubisin (DOX). Penelitian bertujuan untuk membuktikan potensi Ekstrak Etanol Daun Kenikir (EEDK) sebagai hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi DOX.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan randomized matched post only control group design. Sebanyak 25 ekor tikus galur wistar dibagi menjadi 5 kelompok secara acak. Kelompok I, control normal diberi asupan akuades, kelompok II kontrol hepatotoksik diberikan doksorubisin dosis 5 mg/KgBB. Kelompok III, IV dan V merupakan kelompok perlakuan EEDK dengan dosis berturut-turut 250,500, dan 1000 mg/kgBB dengan DOX dosis 5 mg/kgBB, Pemberian DOX dilakukan pada hari ke-1, ke-5, ke-9 dan hari ke-13 secara intraperitoneal (ip) dan pemberian EEDK dilakukan 1 kali sehari selama 14 hari secara peroral (po). Seluruh hewan uji diambil darahnya pada hari ke-15. Kadar SGOT dan SGPT dievaluasi untuk melihat adanya kerusakan hati. Data kadar SGOT dianalisis dengan one way anova, sedangkan data kadar SGPT dianalisis menggunakan Kruskal-wallis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa DOX dapat menyebabkan hepatotoksik ditandai dengan peningkatan kadar SGOT dan SGPT. Ekstrak etanol daun kenikir mampu memberikan efek hepatoprotektor yang signifikan ($p \leq 0,05$) pada tikus yang diinduksi doksorubisin ditunjukkan dengan penurunan kadar SGOT dan SGPT.

Kata Kunci: doksorubisin, daun kenikir, hepatoprotektor, SGOT, SGPT

PENDAHULUAN

Doksorubisin (DOX) merupakan antibiotik golongan antrasiklik yang banyak digunakan sebagai agen kemoterapi. DOX telah digunakan pada pengobatan kanker limfoma ganas dan aktif terhadap pengobatan tumor padat terutama pada kanker payudara (Brunton *et al.*, 2008). Penggunaan DOX sebagai agen kemoterapi dapat digunakan baik secara tunggal maupun kombinasi (Quiles *et al.*, 2002). Penggunaan DOX pada terapi kanker menyebabkan beberapa efek samping yang bersifat *irreversible* antara lain mempengaruhi sistem imun, rambut rontok, radang tenggorokan,

hepatotoksisitas, dan kardiotoxikitas (Bustova *et al.*, 2009; Frias *et al.*, 2009).

Mekanisme toksisitas DOX telah banyak diketahui, salah satunya yaitu terjadinya toksisitas kronis DOX yang kemungkinan diperantarai oleh konversi metabolit DOX menjadi doksorubisinol dengan melibatkan berbagai enzim, antara lain karbonil reduktase. Mekanisme utama toksisitas DOX terjadi karena interaksinya dengan besi dan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menyebabkan *stress oxidative* sehingga memacu terjadinya kematian sel (Minotti *et al.*, 2004).

Salah satu upaya pencegahan efek samping doksorubisin akibat adanya ROS yaitu dengan pemberian bahan alam yang mengandung antioksidan. Daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) mengandung saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri (Hutapea *et al.*, 2001). Daun kenikir segar mengandung flavonoid sebesar 143 mg/100 g dengan kandungan kuersetin paling tinggi sebesar 51,3 mg/100 g (Andarwulan *et al.*, 2010). Ekstrak etanolik daun kenikir terbukti mengandung flavonoid glikosida berupa kuersetin 3-O-poliglikosida (Rachmani, 2009). Ekstrak etanol daun kenikir memiliki daya antioksidan kuat dengan harga IC50 sebesar 0,055 mg/mL (Mediani *et al.*, 2013) serta memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor (Novianto and Hartono, 2016).

Peneliti ingin membuktikan efek ekstrak etanol daun kenikir (EEDK) sebagai hepatoprotektor. Adanya aktivitas antioksidan dalam ekstrak etanol daun kenikir, maka diduga bahwa ekstrak etanol daun kenikir mempunyai efek hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi doksorubisin.

METODE PENELITIAN

Bahan : Daun kenikir yang diperoleh dari Bandungan, Kabupaten Semarang, Jawa Tengah. Daun yang digunakan adalah daun yang segar dan tidak berpenyakit, doksorubisin hidroklorida 50 mg/25 ml, Etanol 70%, CMC-Na 0,5%,

Alat : *Moisture balance* (Orpus), timbangan elektrik, Alat untuk pengujian efek hepatotoksik ekstrak etanol daun kenikir, Alat pengukur SGOT dan SGPT adalah *Autoanalyzer clinic*

Metode : *randomized post test only control group design* dengan 25 ekor tikus jantan galur wistar, dibagi menjadi 5 kelompok secara *random sampling* (Ekowati *et al.*, 2013).

Ekstraksi

Daun kenikir basah ditimbang sebanyak 10 kg selanjutnya dikeringkan menggunakan

oven pada suhu 50°C.). Serbuk daun kenikir yang diperoleh sebanyak 1,52 kg. Serbuk simplisia daun kenikir diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.

HASIL PENELITIAN

1. Uji Efek Hepatotoksik Ekstrak Etanol Daun Kenikir

Suspensi ekstrak etanol daun kenikir dibuat dalam tiga konsentrasi yaitu 8% untuk dosis 1000 mg/Kg BB, 4% untuk dosis 500 mg/Kg BB dan 2% untuk dosis 250 mg/Kg BB. Suspensi ekstrak etanol daun kenikir diambil dengan menggunakan spuit oral 2,5 cc. Ekstrak diberikan selama 14 hari perlakuan secara per oral (Ekowati *et al.*, 2013)

Larutan doksorubisin dosis 5 mg/Kg BB diambil dengan menggunakan spuit 1 cc lalu diberikan secara *intrapertoneal* pada hari ke-1, 5, 9 dan 13. Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah sebanyak 1 mL dari *sinus orbitalis* untuk dilakukan pengukuran kadar SGOT dan SGPT.

2. Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT

Sampel darah tikus diambil dari *sinus orbitalis* sebanyak 1 mL menggunakan *capillary tube* kemudian ditampung dalam eppendorf. Darah yang ada dalam *eppendorf* didiamkan 30 menit hingga membentuk *clot*. Darah disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk diambil serumnya dan dilakukan pengukuran kadar SGOT dan SGPT (Ekowati *et al.*, 2013). Pengukuran kadar SGOT dan SGPT dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Tengah.

PEMBAHASAN

I. Pembuatan tikus hepatotoksik

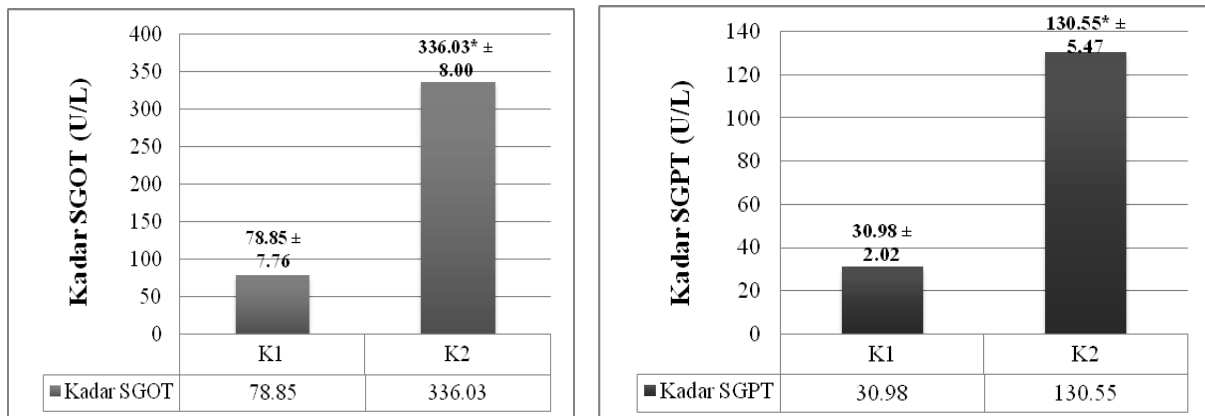
DOX merupakan antibiotik golongan antrasiklik yang banyak digunakan untuk terapi berbagai macam jenis kanker (Childs *et al.*, 2002). DOX dapat menyebabkan hepatotoksitas pada

pemakaian jangka panjang, sehingga penggunaannya dalam klinis menjadi terbatas.

Ekowati *et al.*, (2013), membuktikan bahwa induksi DOX pada hari ke-1, 5, 9, dan 13 dapat menyebabkan hepatotoksik dengan ditandai peningkatan kadar SGOT dan SGPT pada tikus. Parameter untuk mengetahui tikus mengalami hepatotoksik akibat induksi doksorubisin yaitu dengan membandingkan kadar SGOT dan SGPT antara kelompok kontrol normal dan kelompok kontrol hepatotoksik. Kelompok kontrol normal digunakan untuk mengetahui kadar normal SGOT dan SGPT pada tikus, sedangkan kelompok kontrol hepatotoksik digunakan sebagai kontrol validasi adanya peningkatan kadar SGOT dan SGPT pada tikus (Ozer *et al.*, 2008).

Ekstrak etanol daun kenikir memiliki kadar flavonoid total (mg ekuivalen kuersetin/g) sebesar 4.33 $\mu\text{g/mL}$ (Wahyuni *et al.*, 2018) dan nilai IC50 sebesar 0,055 mg/mL termasuk dalam kategori antioksidan kuat (Mediani *et al.*, 2013). Senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada ekstrak etanol daun kenikir yaitu flavonoid jenis kuersetin 3-O-poliglikosida (Rachmani, 2009) yang mempunyai efek sebagai hepatoprotektor (Miltonprabu *et al.*, 2016).

Dosis ekstrak etanol daun kenikir yang digunakan adalah 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB dan 1000 mg/Kg BB. Doksorubisin diberikan dengan dosis 5 mg/Kg BB pada hari ke-1, 5, 9 dan 13 pada masa perlakuan. Konsentrasi larutan stok doksorubisin yang digunakan adalah 2 mg/ml.



Gambar 1. Hasil rata-rata (\pm SE) kadar SGOT (a) dan kadar SGPT (b) setelah induksi doksorubisin.

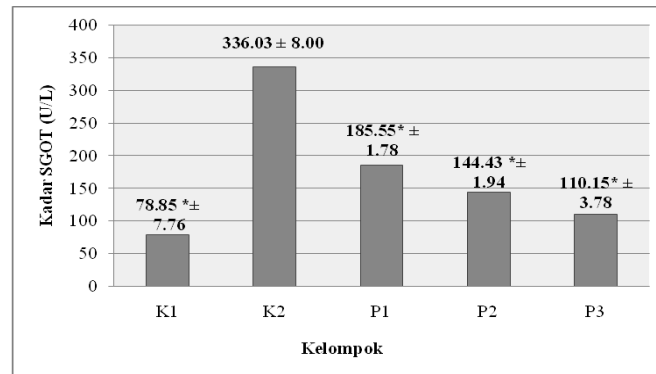
Keterangan: K1 : Kelompok kontrol normal dengan asupan aquadest *ad libitum*; K2 : Kelompok kontrol hepatotoksik dengan induksi doksorubisin dosis 5 mg/Kg BB, SE : *Standar Error*; *) Hasil uji *T-test Independent* (a dan b) menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok kontrol hepatotoksik dengan kelompok kontrol normal ($p \leq 0.05$).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar SGOT dan SGPT pada kelompok kontrol hepatotoksik (K2) lebih besar dibanding dengan kelompok kontrol normal (K1) dan berbeda signifikan ($p \leq 0.05$). Hal ini menunjukkan bahwa induksi doksorubisin dosis 5 mg/Kg BB yang diberikan pada hari ke-1, 5, 9 dan 13 mampu meningkatkan kadar SGOT dan SGPT dalam darah tikus.

2. Efek Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Kenikir

a. Hasil Penetapan Kadar SGOT

Efek hepatoprotektor EEDK terhadap kadar SGOT ditunjukkan dengan kadar SGOT yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol hepatotoksik (K2). Data rata-rata kadar SGOT tikus dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Perbandingan rata-rata (±SE) kadar SGOT antara kelompok hepatotoksik dengan seluruh kelompok perlakuan.

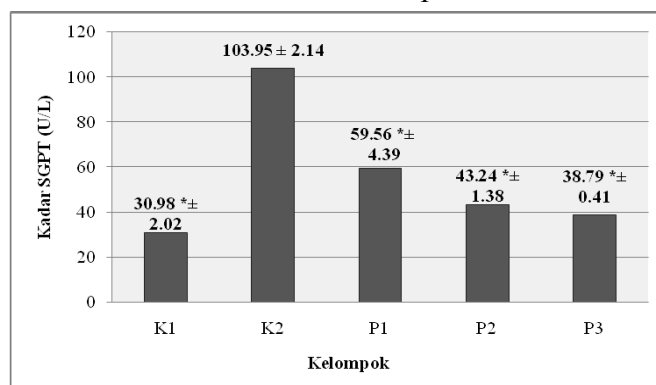
Keterangan: K1: Kontrol normal; K2: Kontrol hepatotoksik; P1: Kelompok perlakuan EEDK dosis 250 mg/Kg BB; P2: Kelompok perlakuan EEDK dosis 500 mg/Kg BB; P3: Kelompok perlakuan EEDK dosis 1000 mg/Kg BB; SE: *Standar Error*. *) Hasil uji *Tukey* menunjukkan adanya perbedaan signifikan dibandingkan kelompok kontrol hepatotoksik ($p \leq 0.05$)

Uji hepatoprotektor dilakukan dengan membandingkan hasil penetapan kadar SGOT antara kelompok kontrol hepatotoksik (K2) dengan seluruh kelompok perlakuan setelah pemberian suspensi uji EEDK selama 14 hari. Berdasarkan grafik di atas, hasil rata-rata kadar SGOT pada kelompok perlakuan EEDK dosis 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, dan 1000 mg/Kg BB (P1, P2, P3) lebih rendah dibanding kelompok kontrol hepatotoksik (K2). Penurunan kadar SGOT pada tikus menunjukkan bahwa EEDK mempunyai efek hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi doksorubisin. Kadar

rata-rata SGOT kelompok perlakuan EEDK dosis 250 mg/Kg BB (P1) dan kelompok perlakuan EEDK dosis 500 mg/Kg BB (P2) berbeda signifikan ($p \leq 0.05$) dengan kelompok perlakuan EEDK dosis 1000 mg/Kg BB (P3). Hasil tersebut menunjukkan bahwa seluruh dosis EEDK memiliki efek hepatoprotektor

b. Hasil Penetapan Kadar SGPT

Efek hepatoprotektor EEDK terhadap kadar SGPT ditunjukkan dengan kadar SGPT lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol hepatotoksik (K2). Data rata-rata kadar SGPT tikus dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Perbandingan rata-rata (±SE) kadar SGPT antara kelompok hepatotoksik dengan seluruh kelompok perlakuan.

Keterangan: K1: Kontrol normal; K2: Kontrol hepatotoksik; P1: Kelompok perlakuan EEDK dosis 250 mg/Kg BB; P2: Kelompok perlakuan EEDK dosis 500 mg/Kg BB; P3: Kelompok perlakuan EEDK dosis 1000 mg/Kg BB; SE: *Standar Error*. *) Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan signifikan dibandingkan kelompok kontrol hepatotoksik ($p \leq 0.05$).

Uji hepatoprotektor dilakukan dengan membandingkan hasil pengukuran kadar SGPT antara kelompok kontrol hepatotoksik (K2) dengan seluruh kelompok perlakuan EEDK selama 14 hari. Hasil rata-rata kadar SGPT pada kelompok perlakuan EEDK dosis 250 mg/Kg BB, 500 mg/Kg BB, dan 1000 mg/Kg BB (P1, P2, P3) lebih rendah dibanding dengan kelompok kontrol hepatotoksik (K2). Hasil analisis statistik menggunakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kadar SGPT seluruh kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol hepatotoksik ($p=0,009$). Hasil ini menunjukkan bahwa EEDK mempunyai efek hepatoprotektor yang ditandai dengan penurunan kadar SGPT pada tikus yang diinduksi doksorubisin.

KESIMPULAN

Doksorubisin dosis 5 mg/Kg BB yang diberikan pada hari ke-1, 5, 9 dan 13 mampu menyebabkan hepatotoksik pada tikus galur wistar ditandai dengan peningkatan kadar SGOT dan SGPT. Ekstrak etanol daun kenikir dosis 250, 500, dan 1000 mg/Kg BB mempunyai efek hepatoprotektor pada tikus yang diinduksi doksorubisin ditandai dengan penurunan kadar SGOT dan SGPT.

DAFTAR PUSTAKA

- Andarwulan, N., Batari, R., Sandrasari, D.A., Bolling, B., and Wijaya, H., 2010, Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia, *Food Chemistry*, 121, 1231–1235.
- Childs, A. C., Phaneuf, S. L., Dirks, A. J., Phillips, T., and Leeuwenburgh., 2002, Doxorubicin Treatment *in Vivo* Causes Cytochrome c Release and Cardiomyocyte Apoptosis, As Well As Increased Mitochondrial Efficiency, Superoxide Dismutase Activity, and Bcl-2:Bax Ratio, *Cancer Research*, 62, 4592-4598.
- Bustova, I., 2009, Risk of Cardiotoxicity of Combination Treatment Radiotherapy and Chemotherapy of Locally Advanced Breast Carcinoma Stage III, *Klin Onkol*, 22, 1, 17-21.
- Brunton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L., 2008, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, McGrawHill, Lange, 1668-1834.
- Ekowati, H., Sarmoko., and Widiastuti, R., 2013, Combination of Three Species of Zingiberaceae Prevent Doxorubicin-Induced Hepatotoxicity, *Universa Medica*, 32, 1-9.
- Frias, M. A., Lang, U., Gerber-Wicht, C., and James, R. W., 2009, Native and Reconstituted HDL Protect Cardiomyocytes from Doxorubicin-Induced Apoptosis, *Cardiovascular Research*, 85, 118-126
- Hutapea, J.R., dan Syamsuhidayat, S.S., 2001, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I Jilid 2*, Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia, Jakarta.
- Mediani, A., Abas, F., Khatib, A., and Tan, C.P., 2013, Cosmos Caudatus as a Potential Source of Polyphenolic Compounds: Optimisation of Oven Drying Conditions and Characterisation of Its Functional Properties, *Molecules*, 18, 10452-10464.
- Miltonprabu, S., Tomczyk, M., Wozniak, K.S., Rastrelli, L., Daglia, M., Nabavi, S.F., Alavian, S.M., and Nabavi, S.M., 2016, Hepatoprotective Effect of Quercetin From Chemistry to Medicine, *Food and Chemical Toxicology*, 1-37.
- Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G. and Gianni, L., 2004, Anthracyclins Molecular Advances and Pharmacologic Developments

- in Antitumor Activity and Cardiotoxicity, *Pharmacol Review*, 56, 185-228.
- Novianto, A., dan Hartono, 2016, Uji Aktivitas Hepatoprotektor Fraksi Etil Asetat Kenikir (*Cosmos caudatus*) Terhadap Tikus yang Diinduksi Paracetamol, *IJMS*, 3, 1, 35-41.
- Ozer, J., Ratner, M., Shaw, M., Bailey, W., and Schomaker, S., 2008, The Current State of Serum Biomarkers of Hepatotoxicity, *Toxicology*, 245, 194-205.
- Quiles, J.L., Dolores, M., Cesar, L., Ramirez, T., Concepcion, M., Aguilera, Maurizio, Battino, Angel, G., and Carmen M.R.T., 2002, Curcuma longa Extract Supplementation Reduces Oxidative Stress and Attenuates Aortic Fatty Streak Development in Rabbits, *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*, 22, 1225-1231.
- Rachmani, E.P.N., 2012, Penentuan Mutu Ekstrak Etanol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth.) dengan Parameter Flavonoid Total dan Minyak Atsiri, *Tesis*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wahyuni, W.T., Darusman, L.K., and Pitria, A.R., 2018, Analisis Kadar Flavonoid dan Antioksidan Ekstrak Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*), Rumput Mutiara (*Oldenlandia corymbosa*), dan Sirsak (*Annona muricata*) dengan Teknik Spektrometri, *Analytical and Environmental Chemistry*, 3, 1, 38-46.