

UJI TOKSISITAS SUBKRONIS FRAKSI KLOROFORM DAUN PANDAN (*Pandanus amaryllifolius* ROXB) SEBAGAI AGEN KOKEMOTERAPI DOKSORUBISIN TERHADAP FUNGSI JANTUNG

Nur Ismiyati¹, Ana Mardiyarningsih¹, Trilestari¹, Achmad Mursyidi², Tedjo Yuwono²

¹D3 Farmasi Poltekkes Bhakti Setya Indonesia

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

nur_is@yahoo.com

ABSTRAK

Fraksi kloroform daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) diketahui memiliki efek sinergis sebagai kokemoterapi doksorubisin pada sel kanker payudara MCF-7 dan T47D. Penelitian ini untuk mengetahui efek toksik subkronis fraksi kloroform daun pandan dikombinasi dengan doksorubisin. Penelitian dilakukan dengan menggunakan tikus Sprague Dawly 1-2 bulan sebanyak 40 ekor dibagi dalam 8 kelompok yang terdiri dari kelompok sehat, kelompok pelarut, kelompok doksorubisin, dan empat kelompok perlakuan kombinasi doksorubisin dan fraksi kloroform. Setelah 30 hari dilakukan pemeriksaan biokimiawi darah trigliseride, LDL, HDL dan kolesterol. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi doksorubisin dengan fraksi kloroform daun pandan tidak menyebabkan toksisitas terhadap jantung dan mampu menurunkan efek toksik doksorubisin terhadap jantung.

Kata kunci: toksisitas subkronis, fraksi kloroform daun pandan, tikus SD

ABSTRACT

Chloroform fraction of pandan leaf (*Pandanus amaryllifolius*) has synergis effect as cochemoteraphy with doxorubicin (Dox) on breast cancer cell line MCF-7 and T47D. This study aims to determine the subchronic toxic effects for 30 days chloroform fraction pandan leaves combined with doxorubicin. This study used 40 female Sprague Dawly rats for 1-2 months who were divided into 8 groups. Group negative control, healthy rat control, positive control Doxorubicin and combination doksorubisine and chloroform fractions. After 30 days the blood were taken and biochemical examination was done to determine trigliseride, LDL, HDL and cholesterol contents. The result showed that the combination chloroform fraction pandan leaves with doxorubicin didn't show toxicological effect on the heart and decreased cardiotoxic effect of doksorubisine on the heart.

Keywords: subchronic toxicity, chloroform fraction pandan leaves, SD rats

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan kanker penyebab kematian kedua pada wanita di dunia (Jemal *et al.*, 2010). Agen kemoterapi yang sering digunakan untuk pengobatan kanker payudara diantaranya adalah doxorubicin. Permasalahan utama yang timbul pada penggunaan agen kemoterapi ini dalam pengatasan kanker payudara adalah timbulnya efek samping pada jaringan normal dan penekanan sistem imun (Wattanapitayakul *et al.*, 2005). Penggunaan bahan alam sebagai kokemoterapi

merupakan strategi terapi kanker dengan mengkombinasikan dengan agen kemoterapi. Kombinasi dengan senyawa fitokimia dapat dijadikan alternatif pilihan (Sharma *et al.*, 2004; Tyagi *et al.*, 2004). Kombinasi ini diharapkan dapat meningkatkan sensitivitas agen kemoterapi terhadap sel target serta dapat meningkatkan sistem imun. Senyawa yang ideal digunakan sebagai kokemoterapi adalah bahan alami yang berefek sinergis dengan agen kemoterapi, sehingga dosis agen kemoterapi dapat diturunkan (Zhao, *et al.*, 2004).

Salah satu bahan alam adalah daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*) yang mulai dikembangkan sebagai senyawa antikanker melalui beberapa penelitian. Ekstrak etanolik daun pandan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MDA-MB-231 melalui jalur apoptosis dan menginduksi G0/G1 *cell cycle arrest* (Chong, H.Z., *et al*, 2012). Senyawa fenolik dan flavonoid yang banyak terkandung di dalam ekstrak metanol daun pandan yaitu rutin, epicatechin, kaempferol dan asam galat menunjukkan penghambatan terhadap sel MCF-7 namun tidak terhadap sel normal MCF-10A serta berfungsi sebagai antioksidan (Ghasemzadeh *and* Jaafar, 2013). Aktivitas sitotoksik ekstrak etanolik dan fraksi kloroform daun pandan masing-masing memiliki nilai IC₅₀ sebesar 540 µg/ml dan 160 µg/ml pada sel MCF-7. Sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi air tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Ismiyati, N., *et al.*, 2015).

Fraksi kloroform memiliki aktivitas sitotoksik terbaik dalam menghambat pertumbuhan sel kanker payudara MCF-7 dan T47D dengan IC₅₀ masing-masing 170 µg/ml dan 370 µg/ml. Fraksi kloroform sebagai agen kemopreventif dikembangkan menjadi agen kokemoterapi dikombinasi dengan doxorubicin. Hasil kokemoterapi menunjukkan efek sinergis antara fraksi kloroform dan doxorubicin dengan mekanisme modulasi pada siklus sel dan pemacuan apoptosis yang lebih baik dibandingkan doxorubicin tunggal, sehingga fraksi kloroform memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen kokemoterapi (Ismiyati, N., 2016). Pengobatan menggunakan agen kemoterapi secara umum dilakukan dalam jangka waktu panjang, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui toksisitas subkronis kombinasi fraksi kloroform ekstrak daun pandan dan doksorubisin menggunakan tikus putih Sprague Dawley.

METODE PENELITIAN

Bahan percobaan : Agen kemoterapi doksorubisin, daun pandan diperoleh dari daerah Kotagede

Yogyakarta. Bahan setelah dikeringkan di bawah sinar matahari dengan kain tertutup, diserbukkan kemudian dibuat ekstrak kental dengan remaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Ekstrak etanol kemudian difraksinasi dengan pelarut kloroform (1:1) sebanyak 3 kali dalam corong pisah, kemudian diambil fase kloroformnya. Fraksi kloroform yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi kental.

Hewan uji : Tikus putih betina galur *Sprague Dawley*, umur 1-2 bulan dengan berat sekitar 100 g. Cara Percobaan : hewan uji sebanyak 40 ekor dibagi menjadi 8 kelompok, masing-masing 5 ekor, diadaptasikan selama 1 minggu sebelum dilakukan perlakuan. Kelompok I kontrol pelarut minyak jagung, kelompok II kelompok pelarut aqua p.i, kelompok III kontrol tikus sehat, kelompok IV kontrol doxorubicin 0,5 µg/200 g BB (pelarut aqua p.i), kelompok V-VIII kelompok kombinasi doxorubicin 0,5 µg/200 g BB dan fraksi kloroform masing-masing 0,125g/200gBB ; 0,250g/200gBB ; 0,500g/200gBB : 1g/200gBB. Pemberian fraksi kloroform adalah dosis tunggal peroral sehari sekali dan doxorubicin diberikan secara intra muskular 3 kali seminggu. Setelah 30 hari, dilakukan pemeriksaan fungsi organ jantung secara biokimia melalui pemeriksaan kimia darah meliputi kadar trigliserida, LDL, HDL, dan kolesterol. Selanjutnya dianalisis dengan program SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Doxorubicin merupakan agen kemoterapi golongan antibiotik antrasiklin, sudah secara luas digunakan sebagai antikanker. Namun dalam pemakaian klinis memiliki beberapa keterbatasan karena mempunyai efek yang tidak diharapkan. Penggunaan doksorubisin dilaporkan dapat menimbulkan risiko efek samping pada jaringan normal terutama jantung (Wattanapitayakul *et al.*, 2005). Struktur doxorubicin diperlihatkan pada gambar 1.

Berbagai penelitian mengenai mekanisme kerja doxorubicin telah dilakukan, diantaranya adalah penghambatan topoisomerase II, interkalasi DNA,

pengikatan membrane sel dan pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen. Pembentukan radikal bebas semiquinon dan radikal bebas oksigen inilah yang bertanggung jawab pada kardiotoxikitas doxorubicin (Bruton *et.al.*, 2005).

Penyakit Jantung Koroner merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh adanya proses aterosklerosis atau pengerasan dan penebalan pembuluh darah koroner karena adanya endapan lipid dan spasme arteri koronaria. Aterosklerosis diawali oleh kondisi hiperlipidemia. Kandungan lipid dalam darah meliputi HDL, LDL, trigliseride dan kolesterol (Herawati, 2016). Pada tabel 1, memperlihatkan pengaruh penambahan fraksi kloroform terhadap kadar lipid darah (HDL, LDL, trigliseride dan kolesterol) selama 30 hari perlakuan.

Trigliseride merupakan senyawa yang terdiri dari 3 molekul asam lemak yang teresterifikasi menjadi gliserol. Dalam serum dibawa oleh lipoprotein, merupakan penyebab utama penyakit arteri (Sutedjo,2006). Kadar Trigiliserid tinggi memiliki kecendrungan 50% lebih tinggi resiko kematian akibat infark (penyumbatan aliran pembuluh nadi atau pembuluh balik) dan sindrom koroner akut. Kelebihan TG dalam tubuh berhubungan dengan tingginya kadar kolesterol sehingga dapat mengakibatkan peningkatan resiko penyakit kardiovaskular. Dari hasil penelitian terjadi penurunan secara signifikan kadar trigliseride dalam darah antara kelompok III (kelompok tikus sehat) dengan kelompok VIII, sehingga menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler (Sutedjo,2006).

HDL (*high density lipoprotein*) merupakan salah satu dari tiga komponen lipoprotein, kombinasi lemak dan protein, mengandung kadar protein

tinggi, sedikit trigliserid dan fosfolipid, mempunyai sifat umum protein dan terdapat pada plasma darah (Sutedjo,2006). Hasil penelitian menunjukkan terjadinya peningkatan kadar HDL pada tikus kelompok VI dibanding kelompok IV (kontrol negatif) . HDL membantu mengurangi penimbunan plak pada pembuluh darah (Sutedjo,2006). Peningkatan kadar HDL meningkatkan perlindungan dari penyakit jantung. Penderita Jantung Koroner dapat disebabkan karena adanya peningkatan kadar trigliserida, LDL dan terjadi penurunan kadar HDL (Herawati, 2016).

LDL (*low density lipoprotein*) adalah lipoprotein dalam plasma yang mengandung sedikit trigliseride, fosfolipid sedang, protein sedang dan kolesterol tinggi. LDL merupakan lipoprotein yang mempunyai andil utama terjadinya arterosklerosis dan penyakit arteri koronaria (Sutedjo,2006). . Penyakit jantung koroner terutama disebabkan oleh penyempitan arteria koronaria, manifestasinya adalah angina pectoris yang menunjukkan bahwa telah terjadi lebih dari 70 % penyempitan arteri koronaria (Majid, 2007). Dari hasil penelitian tidak ada pengaruh pemberian fraksi kloroform terhadap kadar LDL dalam darah selama perlakuan.

Kolesterol adalah alcohol steroid, semacam lemak yang ditemukan dalam lemak hewani, minyak empedu, susu, kuning telur, yang sebagian besar disintesis oleh hati dan sebagian kecil diserap dari diet. Keberadaan dalam pembuluh darah pada kadar tinggi akan cenderung membuat endapan/Kristal/lempengan yang akan mempersempit atau menyumbat pembuluh darah (Sutedjo,2006). Dari hasil penelitian tidak ada pengaruh pemberian fraksi kloroform terhadap kadar kolesterol darah.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan kandungan lipid darah setelah 30 hari perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Trigliseride (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	Kolesterol (mg/dl)
I	Kontrol negatif (minyak jagung)	103,50	7,50	27,00	58,50
II	Kontrol negatif (aqua p.i)	142,50	9,50	37,50	90,50
III	Tikus sehat	213,50**	9,50	35,50	84,50
IV	Kontrol positif (Doksorubisin 0,5 µg/200 mg BB)	101,00	8,50	25,00**	65,00
V	Doksorubisin 0,5 µg/200 g BB + fraksi kloroform 125 mg/200 g BB	116,00	8,50	39,00	90,50
VI	Doksorubisin 0,5 µg/200 g BB + fraksi kloroform 250 mg/200 g BB	56,00	9,50	40,00**	87,50
VII	Doksorubisin 0,5 µg/200 g BB + fraksi kloroform 500 mg/200 g BB	71,50	7,50	24,50	55,50
VIII	Doksorubisin 0,5 µg/200 g BB + fraksi kloroform 1000 mg/200 g BB	38,50**	6,00	39,50	65,00

Keterangan : ** = berbeda signifikan

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan kombinasi doksorubisin dengan fraksi kloroform daun pandan tidak menyebabkan toksisitas terhadap jantung dan mampu menurunkan efek toksik doksorubisin terhadap jantung.

ACKNOWLEDGEMENT

Penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Kemenristek-Dikti yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Dosen Pekerti.

DAFTAR PUSTAKA

Bruton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L., 2005, *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th Edition, McGrawHill, Lange.

Chong, H.Z., Yeap, S., K., Rahmat, A., Akim, A.M., Noorjahan, B.,A., Fauziah, O., and Cheng, L., G., E., 2012, In vitro evaluation of *Pandanus amaryllifolius* ethanol extract for induction of cell death on non-hormone dependent human breast adenocarcinoma MDA-MB-231 cell via apoptosis, *BMC Complementary and Alternative Medicine* 12:134

Herawati, R., 2016, Pemeriksaan Trigliceride, HDL-Cholesterol dan LDL-Cholesterol pada Penderita Jantung Koroner, *Karya Tulis Ilmiah*, Fakultas Biologi, Universitas Setia Budi, Surakarta

Ghasemzadeh, Ali and Jaafar, H., Z., 2013, Profiling of phenolic compounds and their antioxidant and anticancer activities in pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) extracts from different locations of Malaysia, *BMC Complementary and Alternative Medicine* 13:341

- Ismiyati, N., Mardiyarningsih, A., dan Trilestari, 2015, Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanolik dan Fraksi dari Ekstrak Etanolik Daun Pandan (*Pandanus amaryllifolius* ROXB) terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7, Prosiding The 2nd University Research Coloquium, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, 343-348
- Ismiyati, Nur, 2016, *Unpublised data*
- Jemal, A., Siegel, R., Xu, J., and Ward, E., 2010, Cancer Statistic 2010, *CA Cancer J Clin* 60(5): 277-300
- Majid, A., 2007, *Penyakit Jantung Koroner Patofisiologi, Pencegahan dan Pengobatan Terkini*, Pidato Pengukuhan Guru Besar Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara
- Sharma, G., Tyagi, A.K., Singh, R.P., Chan, D.C.F., and Agarwal, R., 2004, Synergistic Anti-Cancer Effect of Grape Seed Extract and Conventional Cytotoxic Agent Doxorubicin Against Human Breast Carcinoma Cells, *Breast Cancer Res. and Treatment*, **85**:1-12
- Sutedjo, A.Y., 2006, Buku Saku Mengenal Penyakit Melalui Hasil Pemeriksaan Laboratorium, Cetakan ke-5, Penerbit Amara Books, Yogyakarta
- Tyagi, A.K., Agarwal, C., Chan, D.C.F., and Agarwal, R., 2004, Synergistic Anti-Cancer Effects of Silibinin with Conventional Cytotoxic Agents Doxorubicin, Cisplatin and Carboplatin against Human Breast Carcinoma MCF-7 and MDA-MB468 Cells, *Oncology Reports*, **11**: 493-499
- Wattanapitayakul, S.K., Chularojmontri, L., Herunsalee, A., Charuchongkolwongse, S., Niumsukul, S., and Bauer, J.A., 2005, Screening of Antioxidants from Medicinal Plants for Cardioprotective Effect against Doxorubicin Toxicity, *Basic and Clin. Pharmacol. and Toxicol.*, **96** (1): 80-87
- Zhao, L., Wientjes, M.G., and Au, J.L-S, 2004, Evaluation of Combination Chemotherapy : Integration of Nonlinear Regression, Curve Shift, Isobologram, and Combination Index Analyses, *Clin. Canc. Res.*, **10**:7994-8004