

Penggunaan Ekstrak Daun Sirsak sebagai Obat Kemoterapi Kanker Payudara

Muhartono¹, Subeki²

¹Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

²Fakultas Pertanian Universitas Lampung

Abstrak

Kanker merupakan salah satu penyakit yang sangat berbahaya penyebab kematian nomor dua setelah kardiovaskuler. Menurut WHO, tahun 2007 diperkirakan 1,2 juta wanita menderita kanker payudara dan lebih dari 700.000 meninggal karena penyakit ini. Kanker payudara berada pada urutan kedua yang diderita wanita Indonesia setelah kanker leher rahim. Pengobatan kanker payudara dapat dilakukan dengan radiasi, pembedahan, dan kemoterapi. Akan tetapi, pengobatan tersebut sering menimbulkan efek samping seperti penyebaran sel kanker ke bagian lain, merusak sel sehat, serta dapat mengakibatkan sel kanker bermutasi hingga sulit untuk dihancurkan. Oleh karena itu, penemuan obat baru yang efektif, aman, dan tidak menimbulkan efek samping sangat diperlukan untuk mengobati penyakit kanker payudara. Salah satu alternatif adalah dengan menggunakan ekstrak daun sirsak (*Annona muritaca* Linn). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak daun sirsak sebagai obat kemoterapi kanker payudara. Penelitian dilakukan dengan ekstraksi dan fraksinasi daun sirsak. Fraksi yang diperoleh selanjutnya dilakukan pengujian toksisitas dan aktivitas anti kanker secara *in vivo* pada tikus percobaan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air dan etil asetat daun sirsak pada dosis 20 mg/kg berat badan menyebabkan kerusakan hati dan ginjal mencit. Pemberian fraksi 100% H₂O, 20% MeOH:H₂O, 50% MeOH:H₂O, 80% MeOH:H₂O, dan 100% MeOH dari ekstrak air serta 100% CHCl₃, 3% MeOH:CHCl₃, dan 100% MeOH dari ekstrak etil asetat tidak mematikan sel kanker payudara pada mencit, akan tetapi fraksi 20% MeOH:CHCl₃ dan 80% MeOH:CHCl₃ dari ekstrak etil asetat dapat mematikan sel kanker payudara mencit. Simpulan, bahwa pemberian ekstrak air dan etil asetat daun sirsak pada dosis 20 mg/kg berat badan menyebabkan kerusakan hati dan ginjal mencit. Hanya fraksi 20% MeOH:CHCl₃ dan 80% MeOH:CHCl₃ dari ekstrak etil asetat dapat mematikan sel kanker payudara mencit.

Kata Kunci: daun sirsak, kanker payudara, kemoterapi

Soursop Leaf Extract as Chemotherapy Drugs for Breast Cancer

Abstract

Cancer is a disease that is very dangerous cause of death after cardiovascular. According to WHO, in 2007 an estimated 1.2 million women with breast cancer and more than 700,000 die from the disease. Breast cancer is the second cancer in Indonesian women after cervical cancer. Breast cancer treatment can be done with radiation, surgery, and chemotherapy. However, these treatments often cause side effects such as the spread of cancer cells to other parts, damaging healthy cells, and can cause cancer cells to mutate and difficult to destroy. Therefore, the discovery of new drugs that are effective, safe, and does not cause side effects are needed to treat breast cancer. One alternative is to use an extract of the leaves of soursop (*Annona muritaca* Linn). This study aims to determine the potential of soursop leaf extract as breast cancer chemotherapy drugs. Fraction obtained by further testing toxicity and anticancer activity *in vivo* in mice. The results showed that the administration of water and ethyl acetate extracts of soursop leaves at a dose of 20 mg/kg body weight causes damage to the liver and kidneys of mice. Giving fraction of 100% H₂O, 20% MeOH:H₂O, 50% MeOH:H₂O, 80% MeOH:H₂O, MeOH and 100% of the water extract and 100% CHCl₃, 3% MeOH: CHCl₃, and 100% MeOH from ethyl acetate extract not deadly to breast cancer cells in mice, but the fraction of 20% MeOH: CHCl₃ and 80% MeOH: CHCl₃ from ethyl acetate extract can be deadly to breast cancer cells of mice. Conclusion, administration of water and ethyl acetate extracts of soursop leaves at a dose of 20 mg/kg body weight causes damage to the liver and kidneys of mice. Only the fraction of 20% MeOH:CHCl₃ and 80% MeOH:CHCl₃ from ethyl acetate extract can kill the breast cancer cells of mice.

Key Words: breast cancer, chemotherapy, soursop leaf

Korespondensi: dr. Muhartono, M.Kes., Sp. PA, alamat Jl. Soemantri Brodjonegoro No. 1, HP 081272358340, e-mail dmuhartono@yahoo.com

Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit yang sangat berbahaya penyebab kematian nomor dua setelah kardiovaskuler. Diperkirakan 1,2 juta wanita menderita kanker payudara dan lebih dari 700.000 meninggal karena penyakit ini. Kanker payudara berada pada urutan kedua yang diderita wanita

Indonesia setelah kanker leher rahim.¹

Pengobatan kanker payudara dapat dilakukan dengan radiasi, pembedahan, dan kemoterapi. Akan tetapi, pengobatan tersebut sering menimbulkan efek samping seperti penyebaran sel kanker ke 5 bagian lain, merusak sel sehat, serta dapat mengakibatkan sel kanker bermutasi hingga sulit untuk

dihancurkan.² Oleh karena itu, penemuan obat baru yang efektif, aman, dan tidak menimbulkan efek samping sangat diperlukan untuk mengobati penyakit kanker payudara. Salah satu alternatif adalah dengan memanfaatkan ekstrak daun sirsak (*Annona Muricata* Linn).

Tanaman sirsak merupakan tanaman obat yang banyak digunakan untuk menyembuhkan penyakit malaria, disentri, demam berdarah, dan kanker. Berdasarkan kajian secara kemotaksonomi, beberapa tanaman famili *Annonaceae* menunjukkan aktivitas anti kanker. Daun *A. Montana* mengandung senyawa *monotetrahydrofuranic acetogenins* yang dapat mematikan sel kanker hati *Hep G2 cells*.³ Biji *A. crassiflora* mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi.⁴ Ekstrak daun *A. squamosa* mengandung protein *ribosome-inactivating protein* (RIP) sebagai immunotoxin untuk menyembuhkan penyakit kanker.⁵

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan aktivitas anti kanker terhadap sel kanker payudara T47D secara *in vitro* dengan nilai IC50 sebesar 17,1 µg/mL. Aktivitas anti kanker daun sirsak ini tidak berbeda nyata dengan standar obat tamoxifen dengan nilai IC50 sebesar 13,41 µg/mL. Fraksinasi lebih lanjut ekstrak etanol daun sirsak dalam silika kolom kromatografi yang dielusi dengan heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol menunjukkan aktivitas anti kanker dengan nilai IC50 secara berurutan sebesar 143,1; 120,7; 31,3; dan 45,0 µg/mL.⁶ Dengan demikian, besar kemungkinan ekstrak ini dapat dikembangkan menjadi obat kanker payudara di Indonesia. Penelitian ini dilakukan terhadap hewan percobaan tikus untuk mengetahui aktivitas anti kanker payudara serta kerusakan hati, ginjal, dan gambaran darah. Diharapkan hasil penelitian ini akan bermanfaat bagi pemerintah Indonesia agar tercipta kemandirian memproduksi obat kanker payudara dengan bahan baku tanaman sirsak yang banyak tumbuh di Indonesia.

Metode

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Komponen Bioaktif, Kandang Percobaan, Laboratorium Patologi Anatomi FK Unila, serta Laboratorium Analisa Darah dan Patologi Anatomi Rumah Sakit Urip Sumoharjo Bandar

Lampung. Analisis proton dan karbon 1H, 13C-NMR senyawa anti kanker dilakukan di Laboratorium Biokimia Puspiptek, Serpong. Penelitian berlangsung dari bulan April sampai November 2013.

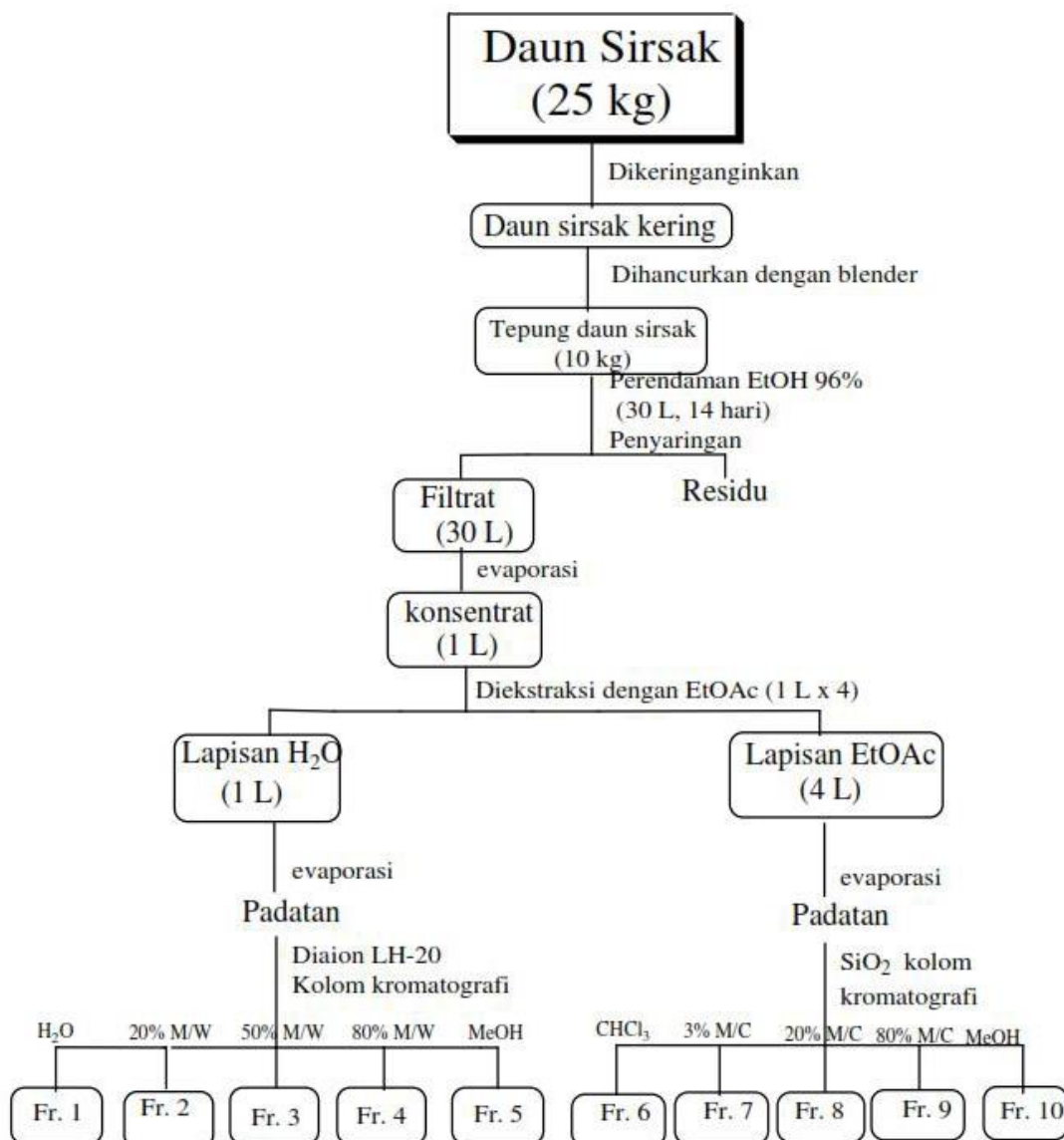
Penelitian terhadap potensi senyawa aktif dari ekstrak daun sirsak sebagai obat kanker payudara akan dilakukan dalam beberapa tahap. Sebanyak 25 Kg daun sirsak segar dikeringanginkan hingga kering. Selanjutnya daun yang sudah kering dihancurkan dengan *blender* hingga menjadi tepung. Sebanyak 10 Kg tepung daun sirsak direndam dalam 30 L etanol 96% selama 14 hari dan setiap hari selama 10 menit dilakukan pengadukan. Selanjutnya filtrat disaring dengan menggunakan kain saring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga menjadi 1 L. Filtrat pekat tersebut kemudian diekstrak dengan etilasetat (EtOAc) sehingga diperoleh lapisan air (H₂O) dan EtOAc. Lapisan H₂O selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga kering kemudian dimasukkan dalam Diaion HP-20 kolom kromatografi dan dielusi dengan H₂O (3 L), MeOH-H₂O (20:80, 3 L), MeOH-H₂O (50:50, 3 L), MeOH-H₂O (80:20, 3 L), dan MeOH (3 L) secara berurutan. Lapisan EtOAc juga diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga kering kemudian dimasukkan dalam silika gel kolom kromatografi dan dielusi dengan CHCl₃ (3 L), MeOH-CHCl₃ (3:97, 3 L), MeOH-CHCl₃ (1:4, 3 L), MeOH-CHCl₃ (8:2, 3L), dan MeOH (3 L) secara berurutan. Masing-masing fraksi yang diperoleh dari lapisan H₂O atau EtOAc selanjutnya dikeringkan dengan *rotary evaporator* dan dilakukan pengujian toksisitas serta aktifitas anti kanker terhadap sel kanker payudara pada mencit. Prosedur ekstraksi dan fraksinasi daun sirsak dapat dilihat pada Gambar 1.

Masing-masing fraksi yang diperoleh dari lapisan H₂O atau lapisan EtOAc akan diuji tingkat toksisitasnya pada mencit. Mencit betina umur 4 minggu serta bebas dari infeksi penyakit dikelompokkan menjadi 11 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor yang ditempatkan dalam kandang terpisah serta diberikan makan minum *ad libitum*. Sebelum diperlakukan, mencit diadaptasikan dalam lingkungan percobaan selama 3 hari. Semua kelompok mencit diberikan senyawa *dimetilbenzantrazena* (DMBA) secara oral dengan dosis 20 mg/kg berat badan (bb)

seminggu dua kali selama 3 minggu agar terbentuk kanker payudara. Selanjutnya masing-masing fraksi diberikan secara oral pada 10 kelompok mencit dengan dosis 20 mg/kg bb sehari sekali selama 7 hari berturut-turut. Satu kelompok mencit digunakan sebagai kontrol tanpa pemberian fraksi daun sirsak. Selanjutnya mencit dipelihara selama 28 hari dan diberikan makan minum *ad libitum*. Setiap hari dilakukan pengamatan secara fisik keadaan mencit dan tingkat mortalitasnya. Pengamatan terhadap jaringan sel kanker payudara dilakukan pada hari ke 28. Pengamatan dilakukan secara fisik dan histologi sel kanker payudara. Selain itu, dilakukan pula pengamatan terhadap kerusakan hati dan ginjal pada hari ke 28.

Jaringan hasil eksisi biopsi (hati, ginjal,

kanker payudara) difiksasi dalam larutan formalin 10%, kemudian dilakukan proses dehidrasi pada alkohol dengan konsentrasi bertingkat, dilanjutkan dengan proses *clearing* menggunakan *xylol*. Potongan jaringan kemudian direndam pada parafin padat pada suhu 56-58°C, kemudian dibuat blok parafin. Jaringan dalam blok parafin kemudian dipotong menggunakan *mikrotome* dengan ketebalan 3-5 µm dan ditempelkan dalam gelas objek. Jaringan pada gelas objek kemudian diwarnai menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE). Selanjutnya, preparat diperiksa menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100, 200, dan 400x. Pada preparat yang baik, akan terlihat inti sel berwarna biru dan sitoplasma berwarna merah jambu.

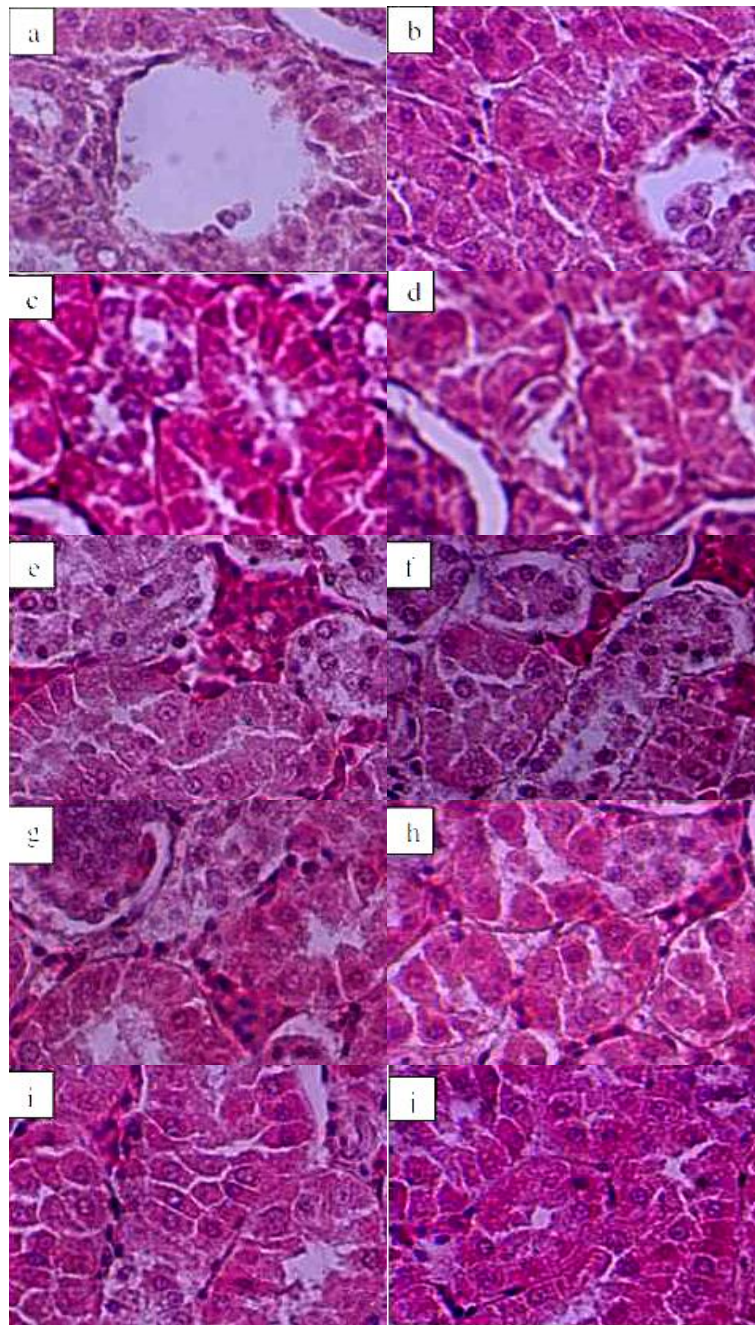


Gambar 1. Prosedur Ekstraksi dan Fraksinasi Dari Daun Sirsak

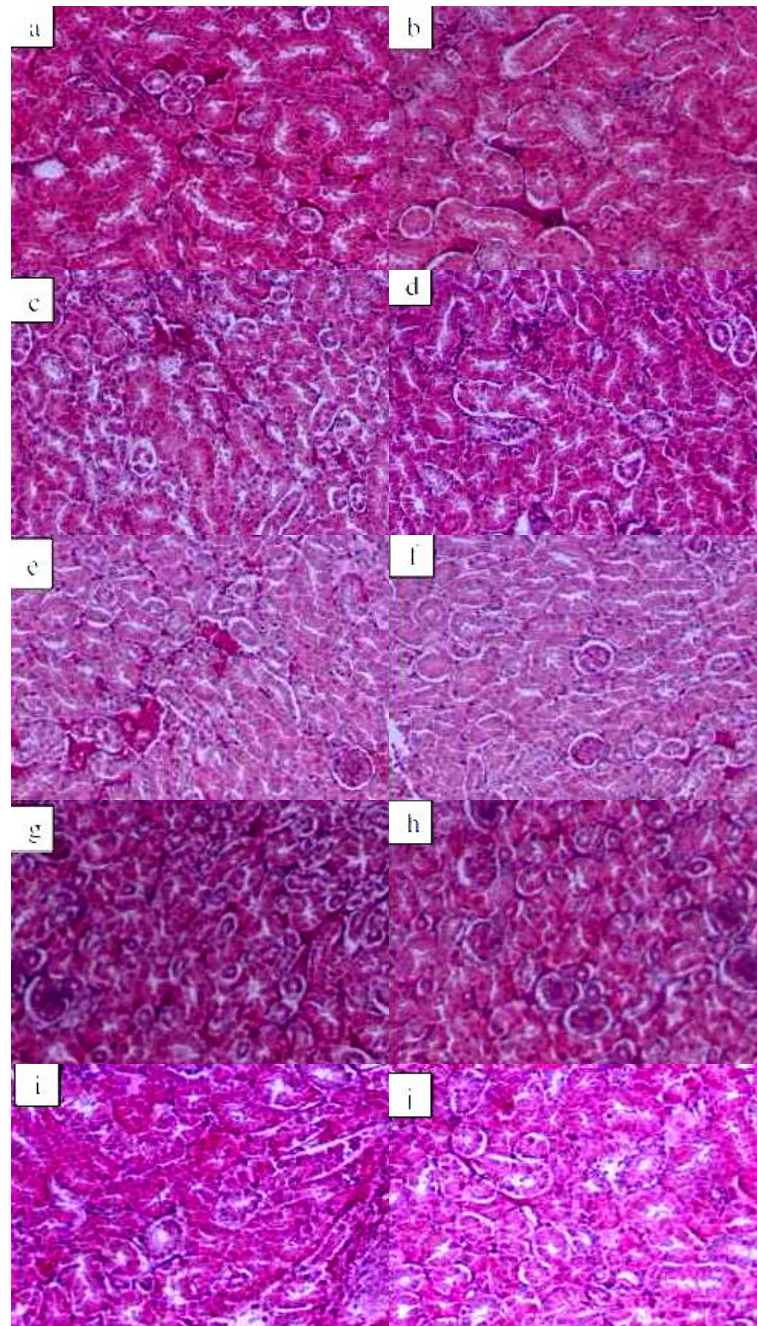
Hasil

Hasil pengamatan terhadap histologi hati mencit diperoleh bahwa pemberian dosis 20 mg/kg bb terjadi kerusakan hati mencit

(Gambar 2). Hasil pengamatan terhadap histologi ginjal mencit diperoleh bahwa pemberian dosis 20 mg/kg bb menyebabkan kerusakan ginjal mencit (Gambar 3).



Gambar 2. Histologi Hati Mencit 100% H₂O (a); 20% MeOH:H₂O (b); 50% MeOH:H₂O (c); 80% MeOH:H₂O (d); 100% MeOH (e); 100% CHCl₃ (f); 3% MeOH:CHCl₃ (g); 20% MeOH:CHCl₃ (h); 80% MeOH:CHCl₃ (i); dan 100% MeOH (j) pada Masing-masing Dosis 20 mg/kg bb

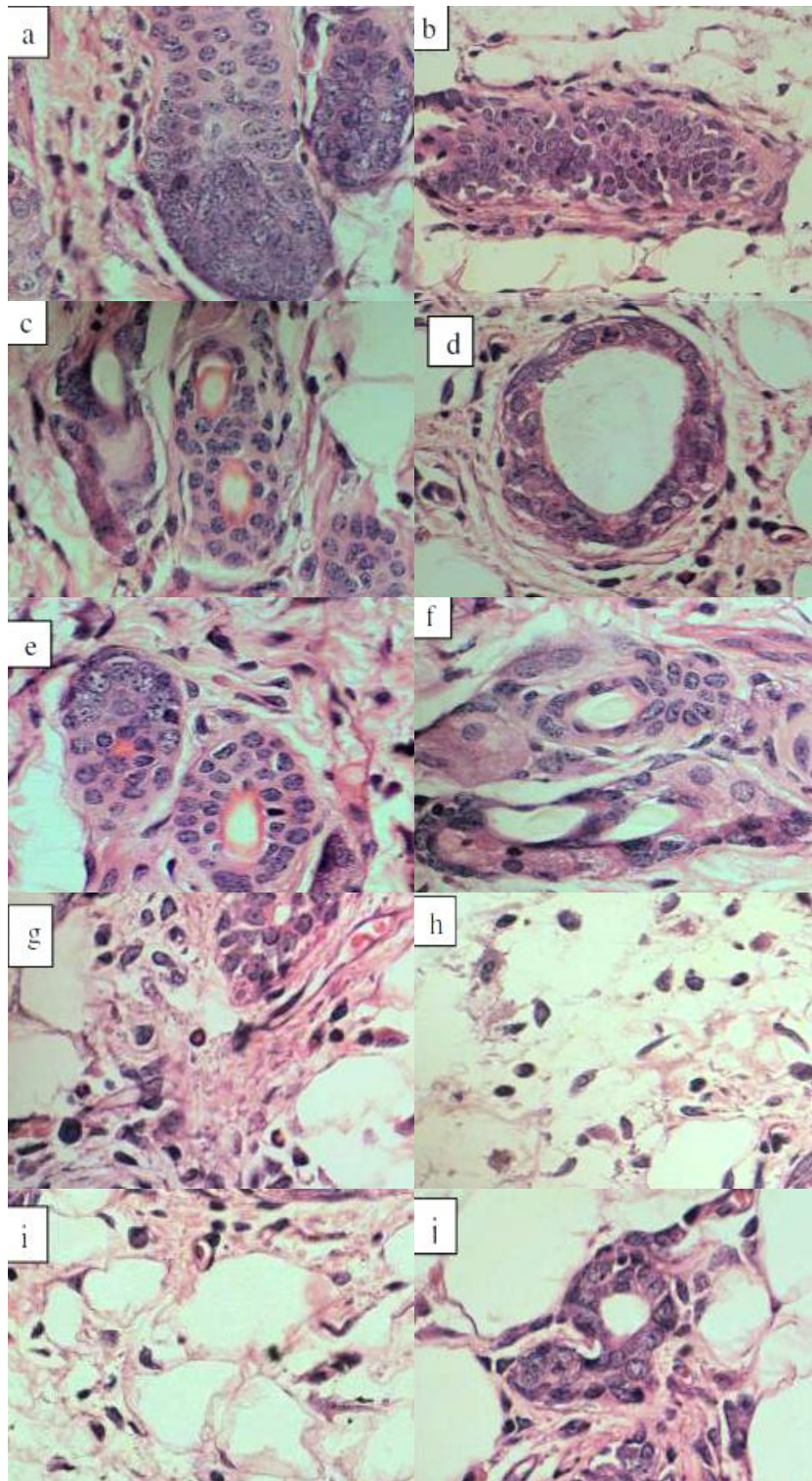


Gambar 3. Histologi Ginjal Mencit 100% H₂O (a); 20% MeOH:H₂O (b); 50% MeOH:H₂O (c); 80% MeOH:H₂O (d); 100% MeOH (e); 100% CHCl₃ (f); 3% MeOH:CHCl₃ (g); 20% MeOH:CHCl₃ (h); 80% MeOH:CHCl₃ (i); dan 100% MeOH (j) pada Masing-masing Dosis 20 mg/kg bb

Histologi Kanker Payudara Mencit

Hasil pengamatan terhadap histologi kanker payudara mencit diperoleh bahwa pemberian fraksi 100% H₂O, 20% MeOH:H₂O, 50% MeOH:H₂O, 80% MeOH:H₂O, dari lapisan air tidak dapat mematikan sel kanker payudara mencit. Hasil fraksinasi lapisan etil asetat 100% CHCl₃, 3% MeOH:CHCl₃, dan 100% MeOH juga tidak dapat mematikan sel kanker payudara

pada mencit, akan tetapi fraksi 20% MeOH:CHCl₃ dan 80% MeOH:CHCl₃ dapat mematikan sel kanker payudara mencit (Gambar 4). Aktifitas fraksi 20% MeOH:CHCl₃ dan 80% MeOH:CHCl₃ dalam mematikan sel kanker payudara pada mencit karena kandungan senyawa aktif pada fraksi tersebut dapat menghambat sintesis pembentukan sel abnormal kanker.



Gambar 4. Histologi kanker payudara 100% H₂O (a); 20% MeOH:H₂O (b); 50% MeOH:H₂O (c); 80% MeOH:H₂O (d); 100% MeOH (e); 100% CHCl₃ (f); 3% MeOH:CHCl₃ (g); 20% MeOH:CHCl₃ (h); 80% MeOH:CHCl₃ (i); dan 100% MeOH (j) pada Masing-masing Dosis 20 mg/kg bb.

Pembahasan

Pada Gambar 2 merupakan histologi hati mencit yang mengalami kerusakan pada dosis 20 mg/kg bb. Hal ini terlihat pada sel-sel hati yang mulai rusak berat seperti terjadinya nekrosis, kongesti, pendarahan, peradangan

dan timbulnya perlemakan. Pendarahan pada sinusoid dapat diakibatkan pecahnya pembuluh darah kapiler sehingga darah masuk ke sinusoid. Penyebab pendarahan ini bisa disebabkan karena adanya peradangan pada sel. Pendarahan tergantung dari kehilangan

volume darah dan tempat terjadinya pendarahan. Kehilangan yang mendadak melebihi 20% dari volume darah atau kehilangan yang lambat dalam jumlah yang lebih besar mungkin dampak kliniknya kecil. Pendarahan yang lebih besar atau lebih akut akan mengakibatkan syok hemoragik.⁷

Peradangan bertujuan untuk memperkecil pengaruh dari agen penyebab terhadap jaringan terluka. Reaksi yang diberikan terhadap jaringan terluka adalah dengan penimbunan cairan dan sel-sel yang berasal dari darah di daerah luka itu. Gejala peradangan meliputi lima gejala utama, yaitu rubor (kemerah-merahan), hal ini terjadi akibat naiknya jumlah darah pada arteri dan vena di daerah peradangan. Kalor (rasa panas), terjadi akibat meningkatnya jumlah darah yang mengalir ke daerah peradangan. Tumor (pembengkakan), hal ini dapat terjadi karena adanya penimbunan cairan dan sel-sel darah. Dolor (rasa sakit), terjadi karena saraf mendapat tekanan dari adanya penimbunan cairan dan sel-sel darah. *Functio laesa* (hilangnya fungsi), akibat adanya pembengkakan rasa, sakit, panas, dapat menyebabkan alat atau jaringan tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya.⁸

Kongesti atau bendung darah secara mikroskopis ditunjukkan dengan adanya sel-sel darah yang terdapat di dalam pembuluh darah, dan letaknya memenuhi lumen pembuluh darah. Menurut Kumar *et al.* (2005)⁷ kongesti merupakan peningkatan volume darah akibat adanya pelebaran pembuluh darah kecil (kapiler). Nekrosis adalah sel yang dianggap mati setelah mengalami serangkaian perubahan. Menurut Safitri (2008)⁹ nekrosis dapat didefinisikan sebagai perubahan morfologi akibat tindakan degradasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas letal. Tanda jelas kematian sel yang terdapat pada inti. Kematian sel terjadi bersama pecahnya membran plasma. Nekrosis ditandai dengan adanya pinoksis, karioreksis, dan kariolisis. Pinoksis (pengerutan inti) ditunjukkan dengan nukleus yang terlihat lebih bundar, ukuran lebih kecil dari ukuran sebenarnya dan warnanya lebih gelap.

Karioreksis (fragmentasi inti) yaitu nukleus pecah menjadi bagian-bagian kecil, yang mungkin dapat berlokasi di tempat semula atau tersebar. Kariolisis yaitu nukleus tidak terlihat lagi atau hilang jika terjadi secara

sempurna, bila kariolisis tidak sempurna maka nukleus terlihat sebagai rongga kosong yang dibatasi oleh membran nukleus yang disebut *ghost*.

Perlemakan juga terdapat pada kerusakan histologi hati. Terjadi pada sel tunggal yang mengalami nekrosis sebagai akibat akumulasi lemak atau pembengkakan seperti balon pada sel hati atau pembentukan kista lemak yang ditunjukkan dengan penyatuan beberapa sel hati berlemak.¹⁰ Menurut Duvall dan Wylie (1986)¹¹ degenerasi lemak merupakan reaksi awal sebelum terjadinya nekrosis pada jaringan.

Pada Gambar 3 merupakan histologi ginjal mencit yang mengalami kerusakan pada dosis 20 mg/kg bb. Hal ini terlihat pada sel-sel hati yang mulai rusak berat seperti terjadinya nekrosis, kongesti, sel radang, pendarahan, peradangan, atrofi glomerulus, dan pembentukan amiloid. Peradangan atau akumulasi sel radang ini dapat terjadi karena infiltrasi leukosit atau limfosit dan disertai kerusakan-kerusakan luas di daerah tubulus. Menurut Pradhasari dkk. (2005)⁸, peradangan bertujuan untuk memperkecil pengaruh dari agen penyebab jaringan terluka. Reaksi yang diberikan terhadap jaringan terluka adalah dengan penimbunan cairan dan sel-sel yang berasal dari darah di daerah luka itu.

Menurut Chono *et al.* (2006)¹² atrofi glomerulus, yaitu suatu sel atau jaringan yang sebelumnya dalam ukuran normal kemudian mengecil akibat pengurangan jumlah darah yang terdapat pada glomerulus, yang menyebabkan penyusutan volume glomerulus, degenerasi tubulus yang menyebabkan sel mengalami sakit, proses nekrosis inti sel, dan akumulasi sel radang.

Timbunan amiloid dapat ditemukan pada tubulus ginjal. Penimbunan amiloid yaitu suatu protein fibrilar ekstra seluler yang abnormal yang ditemukan pada berbagai jaringan. Amiloid pada ginjal dapat menimbulkan kerusakan pada ginjal dan penyebab utama gagal ginjal.

Simpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak air dan etil asetat daun sirsak pada dosis 20 mg/kg berat badan menyebabkan kerusakan hati dan ginjal mencit. Pemberian fraksi 100% H₂O, 20% MeOH:H₂O, 50%

MeOH:H₂O, 80% MeOH:H₂O, dan 100% MeOH dari ekstrak air serta 100% CHCl₃, 3% MeOH:CHCl₃, dan 100% MeOH dari ekstrak etil asetat tidak mematikan sel kanker payudara pada mencit, akan tetapi fraksi 20% MeOH:CHCl₃ dan 80% MeOH:CHCl₃ dari ekstrak etil asetat dapat mematikan sel kanker payudara mencit.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kepada Dikti atas pemberian dana Hibah Bersaing BOPTN tahun 2013 sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

Daftar Pustaka

1. American Cancer Society. Breast cancer facts & figures 2007-2008. Atlanta: American Cancer Society; 2007.
2. National Institute for Health and Care Excellence. Early and locally advanced breast cancer. England: NICE; 2009.
3. Liaw CC, Chang FR, Chen SL, Wu CC, Lee KH, Wu YC. Novel cytotoxic monotetrahydrofuranic annonaceous acetogenins from *annona montana*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2005; 13(15):4767–76.
4. Roesler R, Catharino RR, Malta LG. Antioxidant activity of *Annona crassiflora*: characterization of major components by electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2007; 104:1048–54
5. Sismindari, Hussana A, Mubarika S. Squensing of DNA Supercoil double helix with in vitro method from *annona squamosa*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 1998; 9:4–8.
6. Rachmani EPN, Suhesti TS, Widiastuti R, Adityono. The breast of anticancer from leaf extract of *annona muricata* against cell line in T47D. *International Journal of Applied Science and Technology*. 2012; 2(1):157–64.
7. Kumar V, Abbas AK, Fausto N. Robbins and cotran pathologic basis and disease. Edisi ke-7. Philadelphia: Elsevier Saunders.; 2005.
8. Pardhasaradhi BVV, Reddy M, Ali AM, Kumari AL, Khar A. Differential cytotoxic effects of *annona squamosa* seed extracts on human tumour cell lines: role of reactive oxygen species and glutathione. *J Biosci*. 2005; 30(2):101-8.
9. Safitri W. Efek penambahan nacl 150 mOsmol pH 7 pada liposom tetraether lipid (EPC-TEL 2,5) yang telah disonikasi. Jakarta: FK Universitas Indonesia; 2008.
10. Pimenta LPS, Mendonça DD, Pretti DL, Cruz BLD, Leite EA, De Oliveira MC. Evaluation of In-vivo antitumor activity of *Annona crassiflora* wood extract. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. 2011; 3(3): 270-3.
11. Duvall E, Wylie AH. Death and the cell. *Immunol Today*. 1986; 7:115-9.
12. Chono S, Tauchi Y, Morimoto K. Pharmacokinetic analysis of the uptake of liposome by macrophages and foam cell in vitro and their distribution to atherosclerotic lesions in mice. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2006; 21:37-44.