

Ekstrak Air Daun Sirsak Mempengaruhi Mikrostruktur Kapsula Bowman secara *Dose Dependent Manner* pada Tikus yang Diinduksi 7,12-dimethylbenz-[a]anthracene (DMBA)

Faisal Akbar Athalarik

Prodi Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia
email: keirizaya@gmail.com

Maya Tejasari

Departemen Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia
email: mayatejasari4981@gmail.com

Heni Muflihah

Departemen Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia
email: henimuflihah@gmail.com

ABSTRACT: Kidney is the main excretory organ that has an important role in the human body. Damage to the kidneys can be fatal, especially damage to kidney function, so the filtration and reabsorption process does not work perfectly. 7,12-dimethylbenz- [a] anthracene (DMBA) is a toxic substance that can induce cancer and cause nephrotoxicity. Kidneys that have been exposed to DMBA will correct changes such as dilation of the bowman's capsule. It is known, the leaves of the soursop plant (*Annona muricata*) can increase the antioxidant Nrf-2 and release anti-inflammatory factors. The purpose of this study was to analyze how to apply soursop leaf extract to the average size of the Bowman capsule of rat kidneys. A total of 17 Wistar strain rats were used as experimental animals. This research is purely in vivo experimental research and data analysis using Anova test. Research data taken by observing rat kidney preparations that have been given assistance with a light microscope with the help of Image Raster application. The results showed the effect of doses which affected the size of the Bowman's capsule in rats. The results of statistical analysis showed a link between the deciding groups and the size of capsules. Bowman was rejected because of the value of $p = 0.07$ ($p \text{ value} > 0.05$). Conclusion, give soursop leaf water extract to rats that have been induced by DMBA has no relationship statistically reviewed.

Keyword: Cancer, *Annona muricata*, DMBA, DMBA effect to Kidne

ABSTRAK: Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang memiliki peran penting dalam tubuh manusia. Kerusakan pada ginjal dapat berakibat fatal, terutama kerusakan pada fungsi ginjal, sehingga proses filtrasi dan reabsorpsi tidak berlangsung sempurna. 7,12-dimethylbenz-[a]anthracene (DMBA) merupakan zat toksik yang dapat menginduksi kanker dan menyebabkan nephrotoxicity. Ginjal yang telah terpapar DMBA akan mengalami perubahan seperti dilatasi kapsula bowman. Telah diketahui, daun dari tumbuhan sirsak (*Annona muricata*) dapat meningkatkan antioxidant Nrf-2 dan mengeluarkan faktor antiinflamasi. Tujuan penelitian untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak terhadap rerata ukuran kapsula Bowman ginjal tikus. Sebanyak 17 tikus galur Wistar digunakan sebagai hewan coba. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni in vivo dan analisis data dengan uji Anova. Data penelitian diambil dengan cara melakukan observasi pada preparat ginjal tikus yang telah diberikan serangkaian perlakuan menggunakan mikroskop cahaya dengan bantuan aplikasi Image Raster. Hasil penelitian menunjukkan adanya dose dependent yang mempengaruhi ukuran kapsula Bowman ginjal tikus. Hasil analisis statistik menunjukkan

bahwa praduga adanya keterkaitan antara kelompok perlakuan dengan ukuran kapsula Bowman ditolak karena adanya nilai $p=0.07$ (nilai $p>0.05$). Simpulan, pemberian ekstrak air daun sirsak pada tikus yang telah diinduksi DMBA tidak memiliki keterkaitan ditinjau secara statistik.

Kata Kunci: Kanker, Daun sirsak, DMBA, DMBA terhadap Ginjal

1 PENDAHULUAN

Ginjal merupakan organ ekskresi utama yang sangat penting. Ginjal berperan dalam proses pembuangan sisa-sisa metabolisme dan senyawa asing lain yang masuk ke dalam tubuh. Komponen ginjal yang memainkan peran penting dalam proses filtrasi dan reabsorpsi adalah korpuskulum ginjal dan tubulus proksimal pada korteks ginjal.¹

Kerusakan pada ginjal dapat berakibat fatal, akibat kerusakan pada ginjal fungsi ginjal menjadi tidak terlaksana, sehingga proses filtrasi dan reabsorpsi tidak berlangsung sempurna. Salah satu kerusakan pada ginjal yaitu nefritis. Nefritis adalah istilah umum yang digunakan untuk menggambarkan sekelompok penyakit yang menyebabkan pembengkakan atau radang glomerulus. Peradangan atau inflamasi ini mengurangi kemampuan ginjal untuk menyaring zat sisa dari darah.²

Daun Sirsak memiliki aktifitas antiinflamasi yaitu menghambat mediator inflamasi seperti tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 1 beta (IL-1B), interleukin 6 (IL-6), dan nitric oxide (NO).⁷ Ekstrak dari daun sirsak dapat meningkatkan dari Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) yang merupakan protein yang dapat meregulasi protein anti-oxidant diginjal.³

Terdapat beberapa zat yang dapat menyebabkan kanker atau kerusakan jaringan dan digunakan dalam penelitian untuk menginduksi terjadinya kanker atau kerusakan jaringan pada hewan coba, diantaranya zat kimia 7,12-dimethylbenz-[a]anthracene (DMBA). Senyawa tersebut merupakan senyawa prokarsinogen yang akan menjadi metabolit aktif setelah dimetabolisme oleh sitrokrom P-450 dan diikat dengan Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) membentuk adhesi DNA yang akhirnya dapat memicu *formation of malignant*.⁴ DMBA yang bersifat toksik, jika diinjeksikan tentu dapat menimbulkan berbagai macam kerusakan. Kerusakan yang ditimbulkan akibat DMBA salah satunya terjadi di ginjal. Ginjal yang telah terpapar

DMBA akan mengalami kerusakan seperti peningkatan signifikan dari selularitas glomerulus, dilatasi kapsula bowman dan degenerasi sel tubular.⁵ Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak terhadap gambaran mikrostruktur ginjal tikus model.

2 METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimental murni *in vivo*. Metode ini digunakan untuk melihat adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun sirsak terhadap ginjal tikus yang telah diinduksi DMBA. Sampel untuk penelitian ini yaitu preparat ginjal tikus dengan galur Wistar sebagai hewan coba yang telah diberikan serangkaian perlakuan. Pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap dan sampel yang diperlukan sebanyak 17 tikus Wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Prosedur penelitian melalui beberapa tahap, diantaranya adalah pertama pembuatan ekstrak air daun sirsak. Kedua, penginduksian DMBA 20mg/kg BB.

Ketiga, pemberian perlakuan (pemberian ekstrak air daun sirsak; kelompok I 100mg/kg BB, Kelompok II 200mg/kg BB, Kelompok 3 400mg/kg BB). Keempat, pembuatan sediaan histologi. Kelima, pengamatan sediaan yang dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan bantuan aplikasi *image raster* untuk pengukuran jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* pada kapsula Bowman pada ginjal tikus.

3 HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang dilihat berdasarkan tabel 1 dan tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan yang nyata pada rerata jarak terjauh *visceral parietal layer* kapsula Bowman setiap kelompok perlakuannya.

Tabel 1 Rerata Ukuran Kapsula Bowman pada Seluruh Kelompok

Kelompok	Rerata jarak terjauh	
	visceral dan parietal layer terjauh (μm)	Standar Deviasi
I	9,70	$\pm 0,008$
II	10,52	$\pm 1,52$
III	8,58	$\pm 2,32$
IV	8,01	$\pm 1,74$
V	6,64	$\pm 2,33$

Keterangan: Kelompok I (Kontrol positif): Pakan normal

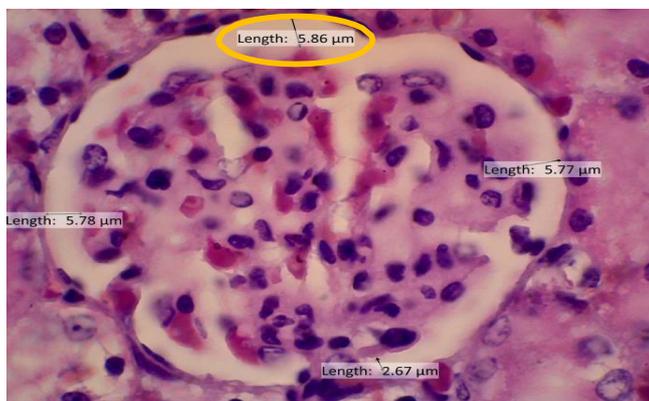
Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA

Kelompok III (Perlakuan I) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 100 mg/kg BB

Kelompok IV (Perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 200 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 400 mg/kg BB

Tabel 1 menunjukkan adanya perbedaan rerata jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* pada kapsula Bowman. Nilai rerata jarak paling jauh ada pada kelompok II dengan perlakuan tikus diberikan pakan normal dandiinduksi DMBA yaitu 10,52 μm . Sedangkan rerata jarak paling dekat ada pada kelompok V dengan perlakuan tikus diinduksi DMBA dan 400mg/kg BB ekstrak air daun sirsak selama 21 hari dengan frekuensi 3 kali dalam 1 minggu. Salah satu gambaran ukuran kapsula Bowman yang telah dilakukan pengukuran dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1 Gambaran Ukuran Kapsula Bowman

Gambar merupakan gambaran mikrostruktur kapsula Bowman pada ginjal tikus yang diinduksi DMBA dan 400mg/kg BB ekstrak air daun sirsak. Pada gambar, jarak terjauh *visceral parietal layer* kapsula Bowman ditunjukkan oleh angka yang dilingkari.

Hasil uji statistik menggunakan uji anova menunjukkan tidak adanya keterkaitan antara perlakuan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak air daun sirsak dengan jarak terjauh *visceral parietal layer* kapsula Bowman. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 2 Uji Beda pada Data Ukuran Kapsula Bowman antara Kelompok Kontrol dengan Kelompok yang Diberi Ekstrak Air Daun Sirsak

Kelompok	Mean	Standar Deviasi	Nilai p*)
I (Kontrol positif)	9,70	$\pm 0,008$	
II (Kontrol negatif)	10,52	$\pm 1,52$	
III (Perlakuan I)	8,58	$\pm 2,32$	0,07
IV (Perlakuan II)	8,01	$\pm 1,74$	
V (Perlakuan III)	6,64	$\pm 2,33$	

Keterangan : Uji Anova

Kelompok I (Kontrol positif): Pakan normal

Kelompok II (Kontrol Negatif) : Pakan normal dan induksi DMBA

Kelompok III (Perlakuan I) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 100mg/kg BB

Kelompok IV (perlakuan 2) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 200 mg/kg BB

Kelompok V (Perlakuan 3) : Pakan normal dan induksi DMBA+ ekstrak daun sirsak konsentrasi 400mg/kg BB

Tabel 2 menunjukkan hasil uji anova dengan nilai $p=0,07$ ($p>0,05$). Maka dapat dikatakan bahwa tidak ada keterkaitan antara perlakuan pemberian ekstrak air daun sirsak terhadap jarak terjauh *visceral* dan *parietal* kapsula Bowman.

3.2 Pembahasan

Setelah dilakukan pengamatan terhadap jarak terjauh antara *visceral* dan *parietal layer* ginjal tikus pada penelitian yang telah dilakukan, diketahui bahwa setiap perlakuan menghasilkan rerata jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* pada kapsula Bowman. Rerata paling jauh pada jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* kapsula Bowman terdapat pada kelompok tikus yang diinduksi

DMBA dan diberikan pakan normal. Rerata paling jauh dengan nilai 10,52 μm diduga terjadi karena efek pemberian DMBA. Diduga penginduksian DMBA tersebut dapat mengakibatkan terjadinya dilatasi pada kapsula Bowman. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Yildirim et.al., pada penelitiannya dinyatakan bahwa penginduksian DMBA terhadap tikus akan menyebabkan terjadinya dilatasi ringan pada kapsula Bowman.⁵

Berbeda dengan kelompok tikus yang diinduksi DMBA dan 400 mg/kg BB ekstrak air daun sirsak, nilai rerata menunjukkan kelompok tersebut memiliki jarak *visceral* dan *parietal layer* paling sempit. Kelompok ini memiliki nilai rerata jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer* sebesar 6,64 μm . Penyempitan pada jarak *visceral* dan *parietal layer* diduga terjadi akibat penginduksian ekstrak air daun sirsak. Pada penelitian sebelumnya, telah diketahui bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak dapat menyebabkan hiperselularitas patologis pada glomerulus.⁶

Terdapat perbedaan diantara kelompok tikus yang diinduksi DMBA dan daun sirsak. Pada kelompok III dengan dosis daun sirsak 100mg/kg BB ukuran *visceral* dan *parietal layer*nya tidak berbeda jauh dengan ukuran *visceral* dan *parietal layer* pada kelompok tikus normal, yaitu sebesar 10,52 μm . Berbeda dengan kelompok IV, kelompok tikus diinduksi daun sirsak dengan dosis 400mg/kg BB. Pada kelompok tersebut terjadi penyempitan ukuran glomerulus. Hal tersebut didasarkan pada jarak terjauh *visceral* dan *parietal layer*nya lebih pendek dibandingkan dengan kelompok tikus normal, yaitu sebesar 6,64 μm . Diduga penyempitan tersebut terjadi akibat hiperselularitas yang terjadi pada glomerulus.

Hiperselularitas pada glomerulus diduga merupakan penyebab dari penyempitan jarak *visceral* dan *parietal layer* pada kapsula Bowman. Hiperselularitas adalah inflamasi yang terjadi pada glomerulus yang dikarakteritikan dengan adanya peningkatan dari jumlah sel di *glomerular tuft*. Hiperselularitas dapat disebabkan oleh: (1) Proliferasi dari *mesangial* atau sel endotelial, (2) Infiltrasi dari leukosit yang menyebabkan *swelling* dan (3) Akumulasi dari proliferasi sel epitel glomerulus dan infiltrasi leukosit yang membentuk formasi bulan sabit.⁷

DMBA adalah derivat dari *Polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH) dan merupakan zat toksik

dan karsinogenik terhadap manusia maupun hewan. Keberadaan DMBA pada tubuh hewan atau manusia akan merusak berbagai jaringan.³⁰ Sejalan dengan penelitian Roduan et.al. DMBA yang terdapat dalam ginjal dapat mengakibatkan kerusakan histologis yang nyata seperti dilatasi pada kapsula Bowman yang dapat mengakibatkan dapat mengganggu fungsi ginjal.⁹ Paparan DMBA dapat menginduksi ROS yang menyebabkan DNA damage. Deplesi sel antioxidant dari mekanisme pertahanan dan peroxidase lipid. Serum Urea (BUN) dan kreatinin meningkat dengan adanya paparan DMBA yang menandakan adanya kerusakan fungsi filtrasi.¹⁰

Pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) memberikan pengaruh baik, namun ada pula pengaruh buruk dari pemberian ekstrak daun sirsak. Daun sirsak mengandung *acetogenins* dapat menyebabkan toksisitas ginjal dengan meningkatkan konsentrasi kalsium, produksi ROS, dan ekspresi dari *BCL2 Associated X proteine* (BAX) / *B-cell lymphoma 2* (Bcl-2). Efek dari ekstrak daun sirsak menyebabkan *atropi glomerulli, hypercellular glomerulli*¹¹

4 KESIMPULAN

Rerata ukuran kapsula Bowman paling pendek terjadi pada kelompok V dan rerata ukuran kapsula Bowman paling jauh terjadi pada kelompok II. Secara statistik, tidak terdapat perbedaan rerata ukuran kapsula Bowman ginjal antara kelompok normal dengan kelompok yang diberikan ekstrak air daun sirsak pada tikus yang diinduksi DMBA.

PERTIMBANGAN MASALAH ETIK

Penelitian ini sudah mendapat persetujuan etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor: 124/Komite Etik.FK/IV/2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Candra A, Trianto HF, In'am Ilmiawan M. Gambaran Histologis Korteks Ginjal Tikus (*Rattus norvegicus*) Pasca Penghentian Paparan Monosodium Glutamat per Oral. *J Cerebellum*. 2015;1(3):202–20.
- Peh CA. Nephritis-Glomerulonephritis. In: *Kidney Health Australia* [Internet]. 2015. p. 1–3. Available from: <http://jurnal.fk.unand.ac.id>

- Ola-Davies OE, Oyagbemi AA, Omobowale TO, Akande I, Ashafa A. Ameliorative effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) against potassium dichromate-induced hypertension in vivo: Involvement of Kim-1/p38 MAPK/Nrf2 signaling. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2019;30(4):1–21.
- Wibowo AE, Wuyung PE, Ranasasmita R. The Influence of DMBA (7 , 12- dimethylbenz- [a] anthracene) Regimen In The Development of Mammary Carcinogenesis on Sprague Dawley Female Rat. *Indones J Cancer Chemoprevention.* 2010;1(1):60–6.
- Yildirim S, Ekin S, Huyut Z, Oto G, Comba A, Uyar H, et al. Effect of chronic exposure to sodium fluoride and 7,12-dimethylbenz[a]anthracene on some blood parameters and hepatic, renal, and cardiac histopathology in rats. *Fluoride.* 2018;51(3):278–90.
- Bitar R, Fakhoury R, Fahmi R, Borjac J. Histopathological Effects of the *Annona muricata* Aqueous Leaves Extract on the Liver and Kidneys of Albino Mice. *Transl Med.* 2017;07(02).
- Kumar V, Abbas Abdul K., Aster JC. Robbins BASIC PATHOLOGY. 9th ed. Canada; 2013.
- Ozdemir H, Oto G, Ekin S, Yener Z. European Pharma Congress. *JPCHS.* 2015;2(4):86.
- Md Roduan MR, Abd Hamid R, Mohtarrudin N. Modulation of cancer signalling pathway(s) in two-stage mouse skin tumorigenesis by annonacin. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):1–16.
- Alnahdi H penelitian/DMBA terhadap nefrotoksisitas. pdf. S, Ayaz NO, Hussein RH, Hamza AH. Evaluation of Protective and Curative Role of *Moringa Oleifera* Aqueous Extract in Dimethylbenz (a) Anthracene (Dmba) Actuated - Nephrotoxic Rats. *Int J Life Sci Pharma Res.* 2017;7(3):L1–8.
- Chen Y, Chen J wei, Zhai J hai, Wang Y, Wang S liang, Li X. Antitumor activity and toxicity relationship of annonaceous acetogenins. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2013;58:394–400. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.028>
- M-Othman L, K-Hassan A, Elbaky AE-A, A-Mahmoud M. Antitumor activity of *Annona muricata* L. fruit and leaves in Ehrlich's ascites carcinoma cell-treated mice. *Int J Adv Biochem Res.* 2018;2(1):21–4.