

PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN WIDURI (*Calotropis gigantea*) TERHADAP GAMBARAN HISTOLOGIS FIBROSARKOMA PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI 7,12-DIMETILBENZ(A)ANTRASENA (DMBA) SECARA IN VIVO

Muslikhah

Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
Malang

Muslikhah.likha92@gmail.com

Abstract

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) terhadap kanker fibrosarkoma mencit yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA) secara in vivo. Mencit (*Mus musculus*) Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan 5 kali ulangan yaitu (K-) Kontrol Negatif, (K+) Kontrol Positif, (P1) dosis 50 mg/kg BB, (P2) dosis 100 mg/kg BB, (P3) dosis 150 mg/kg BB, (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB. Induksi kanker dilakukan dengan pemberian 7,12-dimetilbenz(a)antrasena (DMBA) sebanyak 6 minggu, sedangkan pemberian ekstrak daun widuri dilakukan pada minggu ketujuh sampai kedelapan. Pada minggu kedelapan mencit dikorbankan dan dilakukan pengambilan jaringan kanker pada kulit. Jaringan kanker dibuat preparat histologi dengan metode parafin dan dilakukan pengamatan histologi pada perbesaran 400x. Hasil pengamatan histologi didapatkan bahwa kanker pada mencit adalah fibrosarkoma, ditunjukkan dengan selularitas yang padat, nekrosis, sel mitosis dan polimorfisme inti sel. Data hasil penelitian meliputi jumlah sel fibroblas dan persentase luas kerusakan serat kolagen mencit (*Mus musculus*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) berpengaruh terhadap jumlah sel fibroblas dan persentase luas kerusakan serat kolagen mencit ditemukan pada dosis 150 mg/kg BB yang lebih baik daripada obat kanker sintesis yaitu Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB. Penurunan jumlah fibroblas dan perbaikan serat kolagen ditemukan pada kelompok perlakuan dosis optimal yaitu (P3) dosis 150 mg/kg BB. Jumlah sel fibroblas mencit pada kelompok (P3) dosis 150 mg/kg BB sebesar 92,84 per 5 lapang pandang sedangkan persentase luas kerusakan serat kolagen sebesar 5,53%.

Keywords: Daun widuri (*Calotropis gigantea*), Fibrosarkoma, Mencit (*Mus musculus*)

PENDAHULUAN

Penyakit kanker masih menjadi masalah kesehatan di dunia. Menurut WHO tahun 2010 jumlah penderita kanker di dunia setiap tahun bertambah sekitar 7 juta orang, di Indonesia sendiri tiap tahun diperkirakan terdapat 100 penderita kanker baru per 100.000 penduduk. Ini berarti dari jumlah 237 juta penduduk, ada sekitar 237.000 penderita kanker baru setiap tahunnya. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007, sekitar 5,7 % kematian semua umur disebabkan oleh kanker ganas (Yayasan Kanker Indonesia, 2013). Salah satu jenis kanker yang cukup mematikan adalah fibrosarkoma.

Fibrosarkoma adalah salah satu jenis kanker yang berasal dari sel mesenkim, dimana secara histologi sel yang dominan adalah sel fibroblas. Di Indonesia, fibrosarkoma paling

banyak ditemui pada tahun 2008. *National Center for Health Statistics* (NCHS) memperkirakan bahwa terhitung ada sekitar 7,1% kasus fibrosarkoma dari seluruh diagnosa sarkoma pada tahun 2010 dan terdapat 10.520 kasus dari semua usia terdiagnosa sarkoma dengan 3.920 diantaranya mengalami kematian. Dalam dua dekade terakhir penderita sarkoma melakukan pengobatan melalui pembedahan (operasi) dan juga melakukan kombinasi kemoterapi dan radioterapi sebagai pengganti amputasi (Smookler *et al.*, 2001). Namun pengobatan diatas sering tidak mengatasi kanker. Sehingga mendorong peneliti untuk menemukan obat antikanker baru dari bahan alam.

Karsinogen (carcinogene) adalah bahan yang dapat memicu terjadinya kanker atau keganasan. Karsinogen dapat mempengaruhi DNA atau suatu protein yang berperan pada

pengaturan siklus pembelahan sel, seperti protooncogene atau tumor supressorgene (Sudiana, 2008). Salah satu bahan karsinogen yang memicu terjadinya kanker adalah 7,12-dimetilbenz(α)Antrasena (DMBA). DMBA akan memicu terjadinya kanker dengan cara menyebabkan mutasi pada DNA atau protein yang berperan dalam siklus pembelahan sel seperti protein p53.

Tumbuhan merupakan suatu anugerah besar yang diberikan oleh Allah *Subhanahu Wa Ta'ala* kepada manusia. Salah satu tumbuh-tumbuhan yang bisa digunakan sebagai obat adalah widuri (*Calotropis gigantea*). Pada tanaman widuri ini telah ditemukan lebih dari 23 jenis senyawa bioaktif dari berbagai bagian tanaman, beberapa diantaranya memiliki potensi sebagai antikanker yaitu alkaloid dan terpenoid (Yudi, 2004). Selain itu senyawa bioaktif yang juga berperan sebagai antikanker adalah kardenolida.

Kardenolida merupakan turunan dari senyawa terpenoid yang banyak ditemukan pada bagian daun widuri (Kumar, 2011). Kardenolida merupakan kumpulan senyawa aktif dalam daun widuri yang berpotensi sebagai senyawa sitotoksik yaitu beracun terhadap sel. Sifatnya yang sitotoksik ini bermanfaat bagi kesehatan dan sangat berguna dalam menyerang sel kanker. Walaupun sifatnya sitotoksik, namun kardenolida tidak menyerang sel normal karena kardenolida bertindak dalam cara yang sangat spesifik terhadap sel kanker (Seeka, 2010).

Hasil uji secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) memiliki aktivitas antiproliferatif dalam menghambat 6 sel kanker manusia yaitu, MCF-7, MDA-MB-231, Hela, HT-29, SKOV-3 dan HepG2 dengan penghambatan pertumbuhan sel $\leq 50\%$ (Wong *et al.*, 2011). Ekstrak etil asetat bunga widuri mempunyai aktivitas antitumor dalam melawan Ehrlich's ascites carcinoma (EAC) pada mencit Swiss yang diberikan secara intraperitoneal pada dosis 50, 100 dan 200 mg/Kg BB (Habib *et al.*, 2009). Dosis tersebut ideal dalam menghambat Ehrlich's ascites carcinoma (EAC).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol. Etanol merupakan pelarut golongan alkohol yang paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan seluruh senyawa metabolit sekunder. Ekstrak etanol digunakan untuk proses isolasi senyawa tanin dan terpenoid. Pemilihan etanol sebagai pelarut karena sifat dari senyawa terpenoid adalah polar dan akan larut dengan baik dengan pelarut-pelarut polar (Fatoni *et al.*, 2008).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) terhadap gambaran histologis fibrosarkoma pada mencit jantan (*Mus Musculus*) yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(α)Antrasena (DMBA) secara *in vivo*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dan memberikan informasi ilmiah mengenai kemampuan daun widuri (*Calotropis gigantea*) dalam menghambat pertumbuhan fibrosarkoma.

METODE PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan adalah erlenmeyer tutup 1000 ml, erlenmeyer vacum 500 ml, beaker glass 500 ml, neraca analitik (ketelitian 0.0001 g), syringe 1 ml dan 3 ml, spatula, jerigen 1000 ml, pompa cakum, kertas saring, timbangan hewan (ketelitian 0,2), vortex, pinset, alat bedah, hot plate, dengan magnetic stirrer (untuk pengaduk), mikrotom, masker (sekali pakai), sarung tangan karet (sekali pakai), wadah silinder, jangka sorong (ketelitian 0.05 mm), komputer, oven, pengaduk, timbangan hewan, alat kebersihan, kantung sampah, botol minum mencit, tempat makan mencit, kandang mencit, rak kandang, kaca preparat, kaca penutup, kertas label, tissue dan mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jenis kelamin jantan, umur 50-60 hari dengan berat badan antara 30-32 gram. Banyak sampel yang digunakan adalah 30 ekor yang diperoleh dari peternak di daerah Wagil, Malang, Jawa Timur. Aseton, sekam, pakan mencit (pelet), NaOH, Etanol destilat 70%, chloroform, formalin 10%, alkohol 70%, larutan gelatin 0,5%, xylol, etanol absolut, paraffin, aquades,

hematoxilin, eosin, larutan perak koloidal, Na CMC 0,5% dan etelan. Senyawa 7,12-dimetilbenz(α)Antrasena (DMBA) diperoleh dari laboratorium Faal Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) diperoleh dengan mengekstraksi daun widuri yang didapat dari LIPI Purwodadi Pasuruan Jawa Timur.

Pemberian 0,1 mL DMBA 25 μ g/0,1 mL aseton dilakukan dengan cara disuntikkan secara subkutan di tengkuk mencit sebanyak 2 kali seminggu. Selanjutnya ekstrak daun widuri sebagai pengobatan dilakukan secara oral sebanyak 0,5 mL setiap hari selama 2 minggu setelah 6 minggu penginduksian DMBA kecuali pada kontrol positif dan kontrol negatif.

1. Pembagian Kelompok Sampel

Mencit dipilih secara acak dan dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Kelompok perlakuan dibagi sebagai berikut :

1. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif (K-) adalah kelompok mencit normal yang tidak diinduksi DMBA dan tidak diberi perlakuan
2. Kelompok 2 sebagai kontrol positif (K+) adalah kelompok yang diinduksi DMBA 0,025 mg/gram BB dan diberikan pelarut etanol 70% dan CMC-Na 0,5% sebanyak 0,1 ml 2 kali seminggu selama 6 minggu
3. Kelompok 3 (P1) yaitu kelompok mencit yang diinduksi DMBA sebanyak 0,025 mg/gram BB diberikan 2 kali seminggu selama 6 minggu dan disonde ekstrak etanol daun widuri dosis 50 mg/Kg BB/hari secara per oral setelah 6 minggu penginduksian DMBA.
4. Kelompok 4 (P2) yaitu kelompok mencit yang diinduksi DMBA sebanyak 0,025 mg/gram BB diberikan 2 kali seminggu selama 6 minggu dan disonde ekstrak etanol daun widuri dosis 100 mg/Kg BB/hari secara per oral setelah 6 minggu penginduksian DMBA.
5. Kelompok 5 (P3) yaitu kelompok mencit yang diinduksi DMBA sebanyak 0,025 mg/gram BB diberikan 2 kali seminggu selama 6 minggu dan disonde ekstrak etanol daun widuri dosis 150 mg/Kg BB/hari secara per oral setelah 6 minggu penginduksian DMBA.
6. Kelompok 6 (P4) adalah kelompok yang diinduksi DMBA 0,025 mg/gram BB dan diberikan obat anti kanker berupa Metotrexat

2 kali seminggu selama 6 minggu sebanyak 0,1 ml.

2. Pengambilan Sampel

Pembedahan dilakukan setelah 8 minggu masa perlakuan. Seluruh mencit dibius dengan kloroform, dibedah dan diambil sampel jaringan fibrosa dibagian tengkuk pada daerah subkutan untuk dibuat preparat mikroanatomi. Sediaan mikroanatomi jaringan kulit mencit diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali (10x10) dan 400 kali (40x10) lalu difoto. Pemeriksaan perubahan pertumbuhan sel kanker secara histopatologi dilakukan dengan mengamati jumlah sel fibroblas dan persentase luas kerusakan serat kolagen.

3. Prosedur Penghitungan Jumlah Sel Fibroblas

Sediaan tumor yang dilakukan pengecatan dengan Hematoxilin-Eosin dihitung jumlah sel fibroblas dari area yang diamati dengan pembesaran 400x pada 5 lapang pandang yang dipilih secara acak dari tiap preparat, kemudian diambil nilai rata-ratanya.

Histologi sel fibroblas yang mengalami kelainan memperlihatkan ciri yaitu susunan sel yang tidak teratur, terdapat banyak sel dan ukuran sel yang berbeda (pleomorphism), inti sel membesar, bentuk inti bermacam-macam, serta terjadi banyak mitosis (Cotran et al., 1999).

4. Prosedur Penghitungan Persentase Luas Kerusakan Serat Kolagen

Untuk mengetahui besar kerusakan serat kolagen dilakukan melalui penghitungan kerusakan serat kolagen pada ruang-ruang kosong (tanda panah) seperti pada gambar 2.5 yang menandakan serat kolagen berkurang pada 5 lapang pandang yang dipilih secara acak tiap 1 ekor mencit.

Perhitungan ini dilakukan dengan cara mempersentase jumlah kerusakan dengan menggunakan milimeter block. Cara menghitung persentase kerusakan serat kolagen:

$$x = \frac{\text{jumlah kotak milimeter block pada area kerusakan}}{\text{jumlah seluruh kotak pada milimeter block}} \times 100\%$$

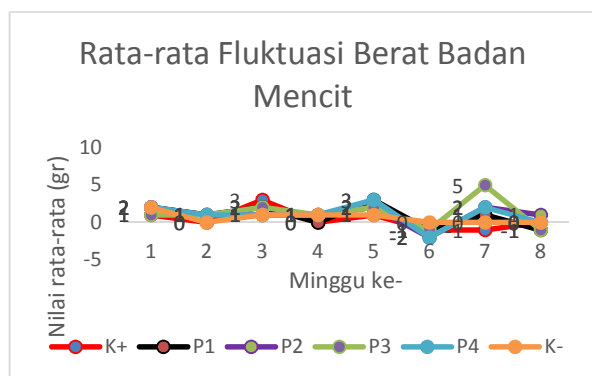
5. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan ANOVA satu arah. Apabila dari hasil analisis diperoleh nilai $F_{hitung} > F_{tabel} (0,05)$ dilanjutkan dengan uji duncan.

PEMBAHASAN

1. Fluktuasi Berat Badan Hewan Coba

Berat badan mencit diamati tiap minggu, untuk memperoleh informasi perubahan berat badan. Perubahan berat badan diperoleh dengan cara mencari perubahan berat badan pada masing-masing perlakuan selama 8 minggu. Data hasil perhitungan rata-rata perubahan berat badan dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Dari gambar di atas diketahui rata-rata perubahan berat badan mencit pada minggu kedua mengalami penurunan, baik itu kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Hal ini dimungkinkan mencit mengalami stress akibat perlakuan yang telah diberikan. Kemudian pada minggu ketiga berat badan mencit umumnya mengalami kenaikan dan kembali turun pada minggu keempat kecuali mencit kelompok kontrol negatif (K-) yang tetap stabil. Pada minggu kelima mencit kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan mengalami kenaikan, namun pada minggu keenam mengalami penurunan berat badan yang cukup drastis.

Pada minggu ketujuh, berat badan mencit kelompok kontrol tetap stabil sedangkan pada mencit kelompok perlakuan mengalami kenaikan yang cukup tinggi. Namun berat badan mencit kelompok perlakuan kembali mengalami penurunan pada minggu kedelapan sedangkan untuk kelompok kontrol positif (K+) mengalami kenaikan dan kelompok kontrol negatif (K-) tetap stabil.

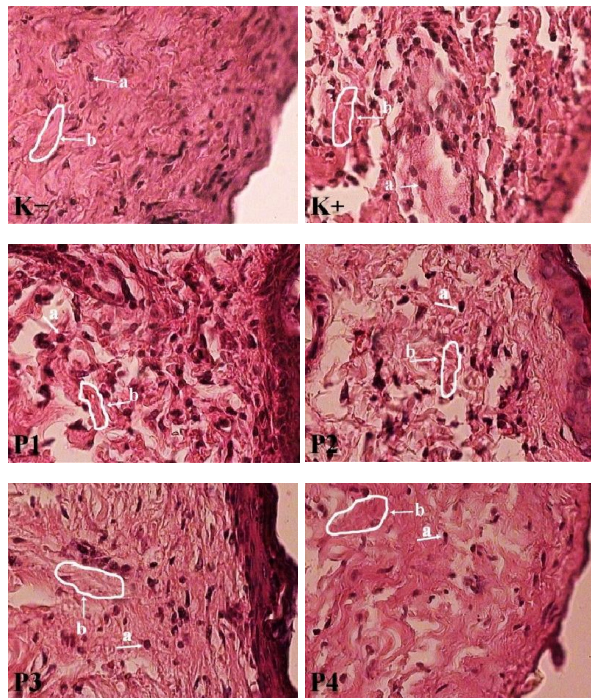
Dari data berat badan yang terlihat, berat badan mencit kelompok kontrol positif (K+) dan kelompok perlakuan mengalami kenaikan dan penurunan yang tidak stabil. Hal ini dimungkinkan karena faktor eksternal seperti stress akibat perlakuan yang bisa mempengaruhi penurunan berat badan. Sedangkan kenaikan berat badan hewan coba dapat dimungkinkan karena mencit berusaha untuk mempertahankan kesehatan tubuhnya sehingga nafsu makan juga akan bertambah. Untuk mencit kelompok kontrol negatif (K-) rata-rata berat badan dari minggu pertama sampai minggu kedelapan cukup stabil karena pada kelompok kontrol negatif (K-) hewan coba tidak mengalami perlakuan apa-apa, sehingga tidak berpengaruh terhadap fluktuasi berat badan hewan coba.

Data yang diperoleh diuji menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah dengan taraf signifikansi 5%. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan hasil pemberian DMBA dan ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) berpengaruh terhadap berat badan mencit (*Mus musculus*).

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan diuji lanjut dengan menggunakan uji lanjut duncan. Berdasarkan hasil uji duncan. Perlakuan (P4) Metotrexat 2,5 mg/kg BB tidak berbeda nyata pengaruhnya dengan perlakuan (P3) 150 mg/kg BB, (P2) 100 mg/kg BB dan (P1) 50 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa fluktuasi berat badan mencit pada perlakuan (P4) Metotrexat 2,5 mg/kg BB setara dengan perlakuan lainnya yaitu perlakuan (P3) 150 mg/kg BB, (P2) 100 mg/kg BB dan (P1) 50 mg/kg BB.

2. Pengaruh Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) Terhadap Jumlah Sel Fibroblas Mencit (*Mus musculus*)

Rata-rata jumlah sel diperoleh untuk mengindikasikan terjadinya penghambatan proliferasi sel fibroblas pada jaringan kulit mencit akibat pengaruh pemberian ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*). Setelah diuji antara mencit kontrol dengan mencit perlakuan mendapatkan hasil yang signifikan, jadi dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) berpengaruh terhadap penurunan jumlah sel fibroblas mencit yang diinduksi DMBA.



Gambaran Histologi Jaringan Kulit Mencit (*Mus musculus*) pada perbesaran 400x: (K-) Kontrol Negaif, (K+) Kontrol Positif, (P1) dosis 50 mg/kg BB, (P2) dosis 100 mg/kg BB, (P3) dosis 150 mg/kg BB, (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB. (a) Sel fibroblas, (b) Serat kolagen. Perbesaran 400x.

Berdasarkan gambar tabel rata-rata jumlah sel fibroblas, terlihat bahwa rata-rata jumlah sel fibroblas mencit terlihat semakin menurun pada (P1) dosis 50 mg/kg BB, (P2) dosis 100 mg/kg BB, (P3) dosis 150 mg/kg BB, dan (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB, bila dibandingkan dengan (K-) kontrol negatif dan (K+) kontrol positif. Pada mencit kelompok (P3) dosis 150 mg/kg BB memiliki jumlah rata-rata sel fibroblas lebih sedikit dibandingkan mencit kelompok (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB, sehingga kelompok (P3) dosis 150 mg/kg BB lebih baik dibandingkan obat standar Metotrexat.

Data yang diperoleh di uji menggunakan uji duncan. Berdasarkan hasil tersebut dapat diartikan bahwa pemberian DMBA dan ekstrak daun widuri (*Calotris gigantea*) berpengaruh terhadap jumlah sel fibroblas mencit (*Mus musculus*).

Berdasarkan uji duncan dapat diketahui bahwa dosis ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) yang mampu menurunkan proliferasi sel fibroblas paling baik adalah dosis 150 mg/kg BB (P3) dan dosis 100 mg/kg BB (P2), menurut

hasil analisis duncan bahwa dosis Metotrexat 2,5 mg/kg BB (P4) tidak berbeda nyata dengan dosis 150 mg/kg BB (P3) dan 100 mg/kg BB (P2), yang berarti dosis (P3) dan 100 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB (P2) setara dengan obat standar yaitu Metotrexat.

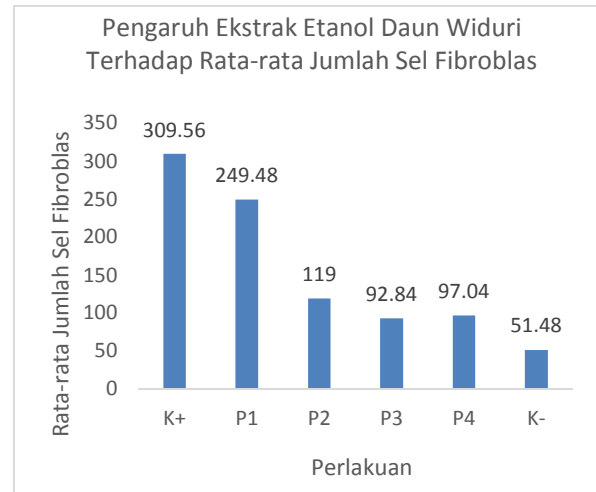


Diagram batang rata-rata jumlah sel fibroblas mencit. Pada perlakuan ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*). (K-) Kontrol Negaif, (K+) Kontrol Positif, (P1) dosis 50 mg/kg BB, (P2) dosis 100 mg/kg BB, (P3) dosis 150 mg/kg BB, (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB.

Kandungan kardenolida yang terdapat dalam ekstrak etanol daun widuri mampu mengendalikan mitokondria. Mitokondria merupakan organel sel penghasil energi berupa Adenin Trifosfat (ATP) yang dibutuhkan sel kanker untuk berkembang. Kardenolida merupakan inhibitor spesifik terhadap enzim ATPase, sehingga produksi ATP menurun dan sel kanker kekurangan energi yang menyebabkan sel kanker mati. Maka pertumbuhan sel kanker dapat terkendali dan sel menjadi normal kembali (Mahdiana, 2012).

3. Pengaruh Ekstrak Daun Widuri (*Calotropis gigantea*) Terhadap Persentase Luas Kerusakan Serat Kolagen Jaringan Kulit Mencit (*Mus musculus*)

Pengaruh pemberian ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) terhadap persentase luas serat kolagen jaringan kulit mencit menunjukkan hasil yang positif, yaitu terjadi perbaikan serat kolagen mencit, yang diberi perlakuan ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) seperti yang

terlihat pada gambar. Berdasarkan gambar 4.2 hasil histologi jaringan kulit, telah menunjukkan bahwa terdapat perbaikan jaringan kulit mencit dan sel fibroblas menjadi normal kembali.

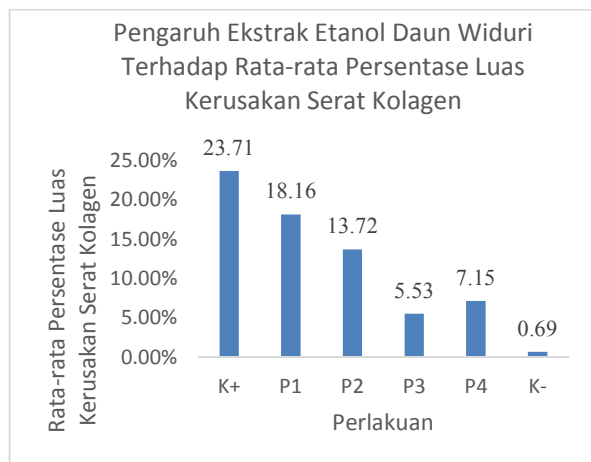


Diagram batang rata-rata persentase luas kerusakan serat kolagen mencit. Pada perlakuan ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*). (K-) Kontrol Negaif, (K+) Kontrol Positif, (P1) dosis 50 mg/kg BB, (P2) dosis 100 mg/kg BB, (P3) dosis 150 mg/kg BB, (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB.

Pada kelompok perlakuan dosis 4 (P4) Metotrexat dosis 2,5 mg/kg BB memiliki rata-rata persentase kerusakan lebih besar dari kelompok perlakuan dosis 3 (P3), sehingga kelompok (P3) dosis 150 mg/kg BB memiliki kemampuan memperbaiki serat kolagen lebih baik dibandingkan obat standar Metotrexat. Setelah diuji antara mencit kontrol dengan mencit perlakuan mendapatkan hasil yang signifikan, jadi dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) berpengaruh terhadap perbaikan luas serat kolagen jaringan kulit mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi DMBA.

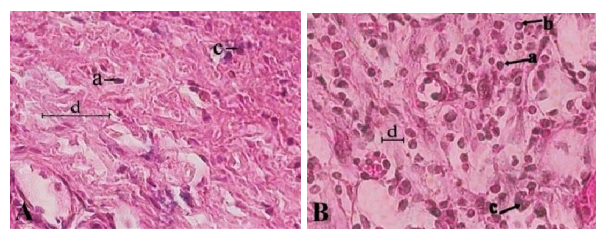
Hasil yang didapat di uji menggunakan analisis ANOVA one way. Berdasarkan hasil tersebut dapat diartikan bahwa pemberian DMBA dan ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) berpengaruh terhadap persentase luas serat kolagen mencit (*Mus musculus*). Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan diuji lanjut dengan menggunakan uji lanjut duncan dengan taraf signifikansi 1%. Berdasarkan hasil uji duncan dari rata-rata persentase luas kerusakan serat kolagen mencit maka diketahui bahwa pemberian ekstrak daun widuri

(*Calotropis gigantea*) terhadap persentase luas kerusakan serat kolagen mencit

Berdasarkan uji duncan dapat diketahui bahwa dosis ekstrak daun widuri (*Calotropis gigantea*) yang mampu menurunkan kerusakan serat kolagen paling baik adalah dosis 150 mg/kg BB (P3) dan menurut hasil analisis duncan bahwa dosis Metotrexat 2,5 mg/kg BB (P4) tidak berbeda nyata dengan dosis 150 mg/kg BB (P3) yang artinya dosis 150 mg/kg BB (P3) setara dengan obat standar Metotrexat

DMBA merupakan radikal bebas yang dapat menyebabkan kerusakan kolagen. Penderita kanker umumnya mengalami kekurangan vitamin C dan E yang berperan penting sebagai pembentuk kolagen. Kandungan fitokimia dalam daun widuri seperti asam fenolik, polifenol, flavonoid, flavonol, terpenoid, vitamin C, vitamin E, karotenoid, asam fenolik, fitat, dan fitoestrogen mampu menekan aktivitas radikal bebas sehingga menghambat mekanisme kerusakan sel (Srivastava, 2012)

Sintesis kolagen dari fibroblas merupakan suatu proses yang sangat memerlukan oksigen. Vitamin C juga mempunyai peran penting dalam sintesis kolagen, tanpa adanya vitamin C maka kolagen muda yang diekskresikan ke daerah luka oleh fibroblas berjumlah sedikit. Oksidasi vitamin C dengan kofaktor Fe^{2+} menyebabkan dikeluarkannya sejumlah anion radikal oksigen superoksida (O_2^-). Ketika produksi O_2^- melebihi jumlah oksigen yang tersedia, sintesis kolagen akan meningkat (Kusyati, 2013).



Gambaran Histologi Jaringan Kulit Mencit (*Mus musculus*) pada perbesaran 400x (A) Jaringan normal, (B) Jaringan fibrosarkoma. (a) Piknosis, (b) Karioeksis, (c) Sel mitosis, (d) Serat Kolagen

Gambaran histologis pada jaringan fibrosarkoma mencit tidak hanya menunjukkan tahapan-tahapan nekrosis sel tapi juga menunjukkan adanya proliferasi sel fibroblas. Seperti yang ditunjukkan pada gambar di bawah terlihat adanya sel yang mengalami tahapan

nekrosis seperti piknosis dan karioeksis, serta terlihat proliferasi sel yaitu sel yang mengalami mitosis.

Selain mengalami nekrosis, sel kanker juga mengalami proliferasi sel yang sangat cepat, jika jumlah sel sangat banyak melebihi batas normal maka angka proliferasi sel tinggi daripada nekrosisnya. Seperti pada mencit kelompok kontrol positif (K+) memiliki rata-rata jumlah sel sebanyak 309,6 tiap 5 lapang pandang sedangkan pada mencit normal rata-rata jumlah selnya sebanyak 51,48 tiap 5 lapang pandang. Hal tersebut menunjukkan bahwa sel kanker dapat berproliferasi sangat cepat.

Serat kolagen adalah jenis serat yang terkuat dan juga yang paling umum di jaringan ikat. Terbentuk dari protein kolagen yang merupakan jenis protein paling banyak terdapat dalam tubuh. Diameternya antara 1 μm – 12 μm dengan rata-rata sebesar eritrosit (7,7 μm). Serabut kolagen terdiri dari gabungan serabut-serabut yang lebih halus berdiameter 0,3 μm – 0,5 μm yang disebut fibril. Dalam keadaan segar serabut kolagen berwarna putih, oleh karena itu dinamakan pula sebagai serabut putih. Serabut kolagen tahan terhadap tekanan ataupun tarikan, tetapi tidak bersifat lentur. Dengan pewarnaan HE akan berwarna merah muda atau merah.

Penelitian ini mencoba menggunakan tanaman yang baik dalam ayat diatas adalah ekstrak etanol daun widuri untuk pengobatan penyakit kanker, karena dalam daun widuri terdapat senyawa kardenolida yang dapat menghambat proliferasi sel kanker. Berdasarkan hasil penelitian ini telah diketahui bahwasanya daun widuri mempunyai efek anti kanker khususnya kanker fibrosarkoma.

Cardenolide atau yang dikenal dengan kardenolida merupakan senyawa steroid yang mengandung atom C-23 dengan cincin lakton segi lima tidak jenuh yang menempel pada atom C nomor 17 bentuk beta (Smithz, 2009).

Salah satu upaya yang dapat digunakan untuk pengobatan penyakit kanker adalah dengan menggunakan ekstrak daun widuri dengan dosis yang tepat. Diharapkan penelitian ini dapat memberikan manfaat kepada penderita kanker

dan pembaca pada umumnya. Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi orang lain.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat pengaruh ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) terhadap gambaran histologi fibrosarkoma mencit (*Mus musculus*) jantan yang diinduksi 7,12-dimetilbenz(α)Antrasena (DMBA) secara in vivo, dan didapatkan dosis optimal dalam mengobati kanker fibrosarkoma adalah dosis 150 mg/ Kg BB.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan guna mengetahui efek ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) dan DMBA terhadap morfologi hewan coba serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak etanol daun widuri (*Calotropis gigantea*) dan DMBA terhadap bentuk sel dan ukuran sel fibroblas.

DAFTAR PUSTAKA

- Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T., 1999. *Pathologic Basis of Disease*, 6th ed. Philadelphia: Saunders
- Fatoni, Amin., Hastuti, Mando., Agustina, V Dwi., Suwandri. 2008. Penentuan Jenis dan Konsentrasi Pelarut untuk Isolasi Zat Warna Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Molekul*, Vol. 3. No 1.
- Habib M.H dan Karim, M.R. 2011. Evaluation of antitumour activity of *Calotropis gigantea* L. root bark against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice. *Artikel*. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Rajshahi University Bangladesh.
- Kumar, G., Karthik, L. dan Rao, K. V. B. 2011. A Review on Pharmacological and Phytochemical Profile of *Calotropis*

gigantea Linn. *Pharmacologyonline* 1:
1-8.

Kusyati, Eni. 2013. Pengaruh Pemberian Suplementasi Vitamin C terhadap Sintesa Fibroblas Mencit. *Jurnal Teknologi Kedokteran*. Vol 302. No.1

Mahdiana, Ratna. 2012. *Khasiat dan Manfaat Obat Herbal sebagai Pengobatan Kanker*. Yogyakarta: Tora Book

National Cancer Institute. 2010. Tamoxifen: Question and Answer.
<http://www.cancer.gov/cancer>

Riset Kesehatan Dasar [RISKESDAS]. 2007.
www.riskesdas.co.id

Seeka, C and Somyote, S., 2010. Cytotoxic Cardenolides from the Leaves of *Calotropis gigantea*. Thailand. *Chem. Pharm. Bull.*58(5) 725—728

Smithz, G., Lepper, H.,Heldrich, M. 2009. *Farmakologi dan Toksikologi* Edisi 3. Jakarta : EGC

Smookler, B; Jacob B; James J; Paul S. and Martin M.M. 2001. Bone and Soft-tissue Sarcomas: Epidemiology, Radiology, Pathology and Fundamentals of Surgical Treatment. Malawer. *Ebook*.

Srivastava, N., Chauhan Singh A., Sharma, B. 2012. Isolation and Characterization of Some Phytochemicals from Indian Traditional Plants. *Biotechnology Research International*. Vol 1155

Wong, S. L. 2008. Diagnosis and Management of Desmoid Tumors and Fibrosarcoma. *Journal of Surgical Oncology*. Vol 97. University of Michigan.

Yayasan Kanker Indonesia [YKI]. 2013.
www.yayasankankerindonesia.org

Yudi, Verita. 2004. Analisis Spektroskopi Senyawa Bioaktif Alkaloid dan Terpenoid Daun Widuri (*Calotropis gigantea* R.Br.). *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol.10, No. 1