

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) dan *Malondialdehyde* (MDA) hepar mencit betina yang diinduksi 7,12- Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen secara in vivo, dapat diuraikan sebagai berikut :

#### 4.1. Hasil penelitian

##### 4.1.1 Kadar Malondialdehyde (MDA) Hepar Mencit Betina Yang Diinduksi Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen

Oksidasi lipid lebih mudah untuk diukur, turunan dari peroksidasi lipid merupakan parameter yang paling terkenal untuk mendiagnosa adanya oksidan. Setijowati (1998) menjelaskan bahwa hasil dari peroksidasi lipid dapat distabilkan dengan merubah bentuk kembali menjadi hidroperoksida, alkohol, alkaline dan aldehide. Aldehide memiliki produk yang bervariasi termasuk hexanal, MDA dan lain sebagainya. MDA dipakai secara luas sebagai indikator adanya zat oksidan. Data hasil perhitungan kadar MDA pada hepar mencit kontrol negatif (normal), kontrol positif (kanker), dan mencit kanker sesudah perlakuan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) tiga dosis, dapat dilihat pada lampiran 2.

Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, setelah diuji ternyata signifikansi  $> 0,05$  ( $0,897 > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian data tersebut diuji homogenitasnya dengan uji homogenitas levene. Setelah diuji, ternyata

signifikansi  $> 0,05$  ( $0,782 > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa data sudah homogen. Data tersebut selanjutnya diuji dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of variance*) yang dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan dosis yang berbeda terhadap kadar Malondialdehyde (MDA) hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen.

Setelah dilakukan perhitungan ANOVA, maka dapat diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{tabel}$  ( $390,536 > 4,89$ ) pada taraf signifikan 1%. Dengan demikian, hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesis 1 ( $H_1$ ) diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat menurunkan kadar MDA hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. Ringkasan mengenai tabel ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Ringkasan ANOVA pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar Malondialdehyde (MDA) hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen.

SK	Db	JK	KT	$F_{hitung}$	$F_{1\%}$
Perlakuan	4	1179,787	294,947	390,536	4,89
Galat	15	11,392	0,755		
Total	19	1191,115			

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan serta dosis yang efektif dari setiap perlakuan, maka dilakukan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Berdasarkan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 1% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar MDA, maka didapatkan notasi BNT pada tabel berikut :

Tabel 4.2. Ringkasan Uji BNT 1% dari penurunan kadar Malondialdehyde (MDA) pada hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen yang diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ SD	Notasi BNT 1%
Kontrol (-) (Normal)	8,250 $\pm$ 0,539	a
Dosis III	16,607 $\pm$ 0,759	b
Dosis II	21,143 $\pm$ 0,867	c
Dosis I	26,197 $\pm$ 1,011	d
Kontrol (+)	30,286 $\pm$ 1,027	e
BNT 1%	1,309	

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata

Uji BNT tersebut menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang sangat nyata pada penurunan kadar MDA hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. Perlakuan kontrol positif pada mencit berbeda sangat nyata dengan perlakuan ekstrak etanol daun sirsak tiga dosis yang berbeda. Kadar MDA meningkat setelah perlakuan patologis dengan penyuntikan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen, yaitu sebesar 30,286  $\pm$  1,027 nmol/ml. Namun, setelah pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) tiga dosis setiap hari selama 8 minggu, kadar MDA turun. Penurunan kadar MDA tertinggi terlihat pada perlakuan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis III (200 mg/kg BB/oral/hari). Kadar MDA turun sampai mendekati normal yaitu sebesar 16,607  $\pm$  0,759 nmol/ml. Pada pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis I (100 mg/kg BB/oral/hari) dan dosis II (150 mg/kg BB/oral/hari), kadar MDA lebih rendah dibandingkan mencit yang terpapar zat karsinogen. Pada pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis I kadar MDA sebesar 26,197  $\pm$  1,011 nmol/ml, sedangkan pada dosis II sebesar 21,143  $\pm$  0,867 nmol/ml. Penurunan kadar MDA ini menunjukkan

bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dapat menurunkan aktivitas radikal bebas pada mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen.

#### **4.1.2 Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Mencit Betina Yang Diinduksi Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen**

*Superoksida Dismutase* (SOD) merupakan salah satu enzim antioksidan seluler yang termasuk dalam antioksidan intraseluler. SOD merupakan metaloenzim yang mengkatalisis dismutase anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Analisa kadar SOD dapat dilakukan dengan xantin dan xantin oksidase sebagai penghasil superoksida, kemudian diamati menggunakan spektrofotometer (Sugito, 2012). Data yang diperoleh dari hasil perhitungan kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) pada hepar mencit (*Mus musculus*) betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen dan diberi perlakuan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan 3 dosis berbeda dapat dilihat pada lampiran 3.

Data yang diperoleh diuji normalitasnya dengan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, setelah diuji ternyata signifikansi  $> 0,05$  ( $0,684 > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa data berdistribusi normal. Kemudian data tersebut diuji homogenitasnya dengan uji homogenitas levene. Setelah diuji, ternyata signifikansi  $> 0,05$  ( $0,839 > 0,05$ ). Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan ANOVA dengan taraf signifikansi 1%. Dari perhitungan tersebut, diketahui bahwa F hitung perlakuan  $> F$  tabel ( $514,569 > 4,89$ ) pada taraf signifikan 1%. Hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak dan hipotesis 1 ( $H_1$ ) diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat mempengaruhi kadar SOD pada hepar mencit (*Mus musculus*) betina

yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. Data perhitungan ANOVA dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Ringkasan ANOVA pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar Superoksida Dismutase (SOD) hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen.

SK	Db	JK	KT	F <sub>hitung</sub>	F <sub>1%</sub>
Perlakuan	4	27918,480	6979,62	514,569	4,89
Galat	15	203,46	13,564		
Total	19	28121,920			

Untuk dapat mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan serta dosis yang paling efektif, maka dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Berdasarkan hasil uji BNT yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar SOD, maka didapatkan notasi BNT seperti tabel 4.4 berikut ini :

Tabel 4.4. Ringkasan Uji BNT 1% dari peningkatan kadar Superoksida Dismutase (SOD) pada hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen yang diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Perlakuan	Rata-rata $\pm$ s	Notasi BNT 1%
Kontrol (+)	31,1 $\pm$ 3,333	a
Dosis I	46,15 $\pm$ 3,155	b
Dosis II	75,75 $\pm$ 4,686	c
Dosis III	99,6 $\pm$ 3,574	d
Kontrol (-) (Normal)	135,4 $\pm$ 3,468	e
BNT 1%	5,5496	

Keterangan : Notasi yang berbeda pada kolom di atas menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata

Hasil uji BNT pada tabel 4.4 tersebut menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang sangat nyata pada peningkatan kadar SOD pada hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. Perlakuan kontrol positif pada mencit berbeda sangat nyata dengan perlakuan ekstrak etanol daun sirsak tiga dosis yang berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak dengan tiga dosis yang berbeda dapat meningkatkan kadar SOD sampai

dengan kondisi mendekati normal. Peningkatan kadar SOD ini menunjukkan bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dapat meningkatkan aktivitas antioksidan enzimatis pada mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen.

4.5. Tabel Data Mencit Perlakuan Dosis IV Yang Mati Sebelum Perlakuan Selesai

No	Mencit ulangan ke-	Tanggal kematian mencit	Ciri-ciri
1	1	Minggu ke-7 setelah aklimatisasi	Di sekitar leher dan mulut bulunya rontok. Setelah dibedah terlihat paru-paru yang hancur, organ pencernaan rusak dan hepar berwarna kehitaman.
2	2	Minggu ke-7 setelah aklimatisasi	Bulu disekitar leher rontok, berat badan menurun, suhu tubuh dingin, tubuh lemas dan gemetar.
3	3	Minggu ke-8 setelah aklimatisasi	Tubuh semakin kurus, bulu di sekitar kepala dan leher rontok. Setelah dibedah terlihat paru-paru rusak, organ hepar rusak, dan organ pencernaan rusak.
4	4	Minggu ke-8 setelah aklimatisasi	Tubuh semakin kurus, bulu di sekitar kepala dan leher rontok. Setelah dibedah terlihat paru-paru rusak, organ hepar rusak, dan organ pencernaan rusak.

Keterangan: Mencit perlakuan dosis IV tidak dapat diambil data kuantitatifnya, karena semua mencit mati sebelum perlakuan selesai.

## 4.2. Pembahasan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c. Peneliti menggunakan mencit karena 60% sampai 80% mencit digunakan untuk tujuan medis dibandingkan spesies-spesies yang lain (Kusumawati, 2004). Jenis kelamin mencit yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit betina. Hal ini dikarenakan mencit betina lebih rentan terkena

penyakit kanker mammae dan selain itu mencit betina juga bisa terkena kanker hepar, salah satu strain yang bisa digunakan adalah strain Balb/c.

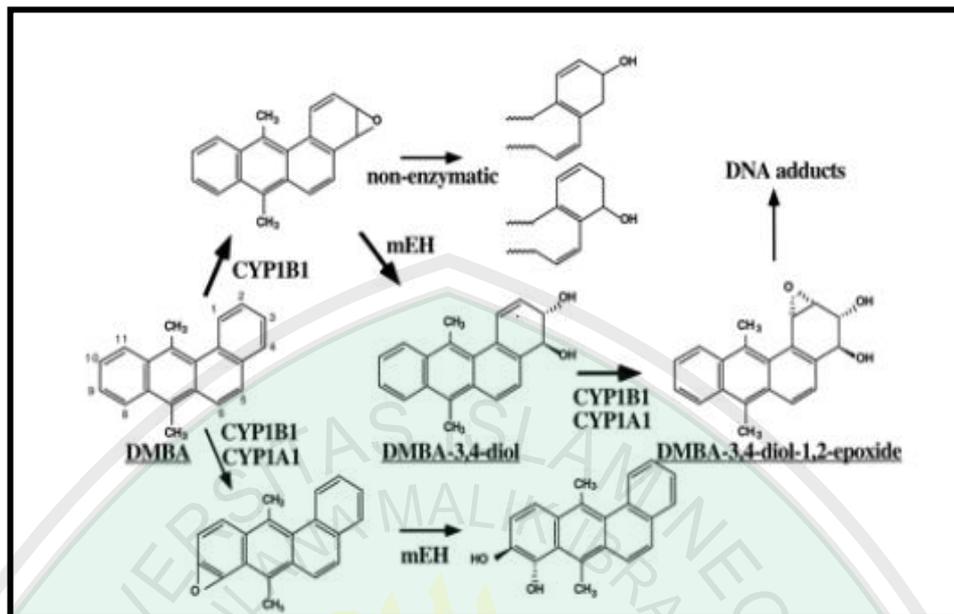
#### **4.2.1. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen**

Untuk memperoleh mencit yang terkena kanker hepar, mencit diinduksi dengan dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen dengan menggunakan dosis tunggal yaitu 20 mg/kg BB yang diinduksikan dua kali dalam satu minggu selama enam minggu diberikan peroral menggunakan sonde lambung. Menurut Budi (2010), metabolit dari DMBA yang diberikan secara oral dapat berefek buruk pada organ hepar. DMBA ini bisa digunakan sebagai model kanker hepar dengan lama induksi dua kali dalam seminggu selama enam minggu.

7,12-dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) merupakan senyawa prokarsinogen dengan rumus empiris  $C_{20}H_{16}$  dan memiliki berat molekul 256,34 g/mol. DMBA merupakan senyawa karsinogen spesifik untuk eksperimental kanker payudara dan kanker kulit pada hewan percobaan, tetapi metabolit sekundernya juga dapat menyerang organ yang lain. Salah satu organ tersebut adalah hepar. DMBA ini bukan merupakan karsinogen *direct*. Aktivitas karsinogen dari DMBA terjadi melalui aktivitas metabolisme (biotransformasi) untuk menghasilkan karsinogenesis. Jalur metabolisme DMBA melalui aktivitas enzim sitokrom P-450 membentuk *proximate carcinogen* dan *ultimate carcinogen* (Dandekar *et al*, 1986).

Jalur metabolisme DMBA melalui aktivasi enzim sitokrom P-450 menjadi intermediate reaktif yang dapat merusak DNA, yaitu terbentuknya epoksida dihidrodiol dan kation radikal. Sitokrom P-450 dan *microsomal epoxide hydrolase* (mEH) memetabolisme DMBA menjadi dua metabolit yaitu metabolit elektrofilik dan metabolit yang mampu membentuk *DNA adduct* (DNA yang berikatan dengan senyawa karsinogenik). Sitokrom P-450 CYP1B1 mengoksidasi DMBA menjadi 3,4-*epoxide* yang diikuti dengan hidrolisis *epoxide* oleh mEH membentuk metabolit *proximate carcinogenic* dan DMBA-3,4-diol. Metabolit ini nantinya dioksidasi oleh CYP1A1 atau CYP1B1 menjadi metabolit *ultimate carcinogenic* (Hatim, 2012).

Metabolit aktif DMBA adalah 3,4-diol-1,2 *epoxide* yang mampu membentuk *DNA adduct*. Metabolit DMBA yang membentuk *DNA adduct* menentukan mutasi dalam gen dan mampu mengendalikan siklus sel, sehingga mendorong pembelahan sel kanker. Senyawa *epoxide* tersebut nantinya akan berikatan secara kovalen dengan gugus amino eksosiklik deoksiadenosin (dA) atau deoksiguanosin (dG) pada DNA. Interaksi ini (*DNA adduct*) dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan inisiasi metabolit. Kemampuan metabolit DMBA yang merupakan *ultimate carcinogen* berikatan dengan DNA salah satunya menyebabkan mutasi somatik dari onkogen Harvey Ras-1 pada kodon 61 kanker payudara dan kanker kulit (Gambar 10) (Dandekar *et al.*, 1986).



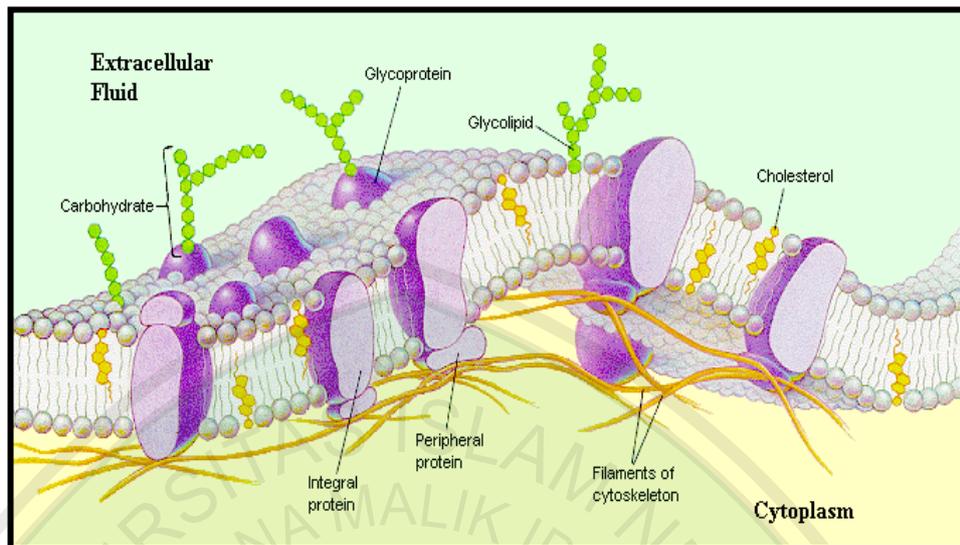
Gambar 10. Jalur Metabolisme DMBA (Smith *et al.*, 2000).

Pemberian DMBA dengan meningkatnya kadar MDA hepar mencit betina menunjukkan hubungan yang erat. Sebelum pemberian DMBA, kadar MDA hepar mencit betina masih normal. Namun, setelah diinduksi DMBA kadar MDA hepar mencit betina mengalami peningkatan. Tetapi setelah diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.), kadar MDA sedikit demi sedikit mengalami penurunan walaupun kadar MDA hepar mencit betina tersebut belum mencapai kadar normal.

Pemberian DMBA dapat menyebabkan stress oksidatif karena terjadi ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Dalam keadaan stress oksidatif, oksidan atau radikal bebas pada tubuh mencit betina akan mengalami peningkatan, sehingga dapat merusak berbagai macam sel seperti sel hepar. Mekanisme kerusakan sel hepar yang disebabkan oleh radikal bebas ini sama dengan kerusakan sel pada umumnya. Fitricia *et al.*, (2012) menyatakan

bahwa sel hepar merupakan tempat DMBA mengalami aktivasi menghasilkan metabolit yang aktif yaitu DNA *adduct*. Produksi *reactive oxygen species* (ROS) terjadi selama aktivasi metabolik DMBA. Metabolit DMBA inilah yang akan menyebabkan DNA *adduct* (kompleks yang dibentuk oleh bagian DNA sehingga menyebabkan kerusakan oksidatif pada struktur dan fungsi DNA, protein dan lipid). Metabolit DMBA yang reaktif ini dapat berinteraksi dengan pusat-pusat di DNA yang kaya elektron untuk menimbulkan mutasi. Interaksi antara DMBA dengan DNA semacam ini dalam suatu sel merupakan tahap awal terjadinya karsinogenesis kimiawi.

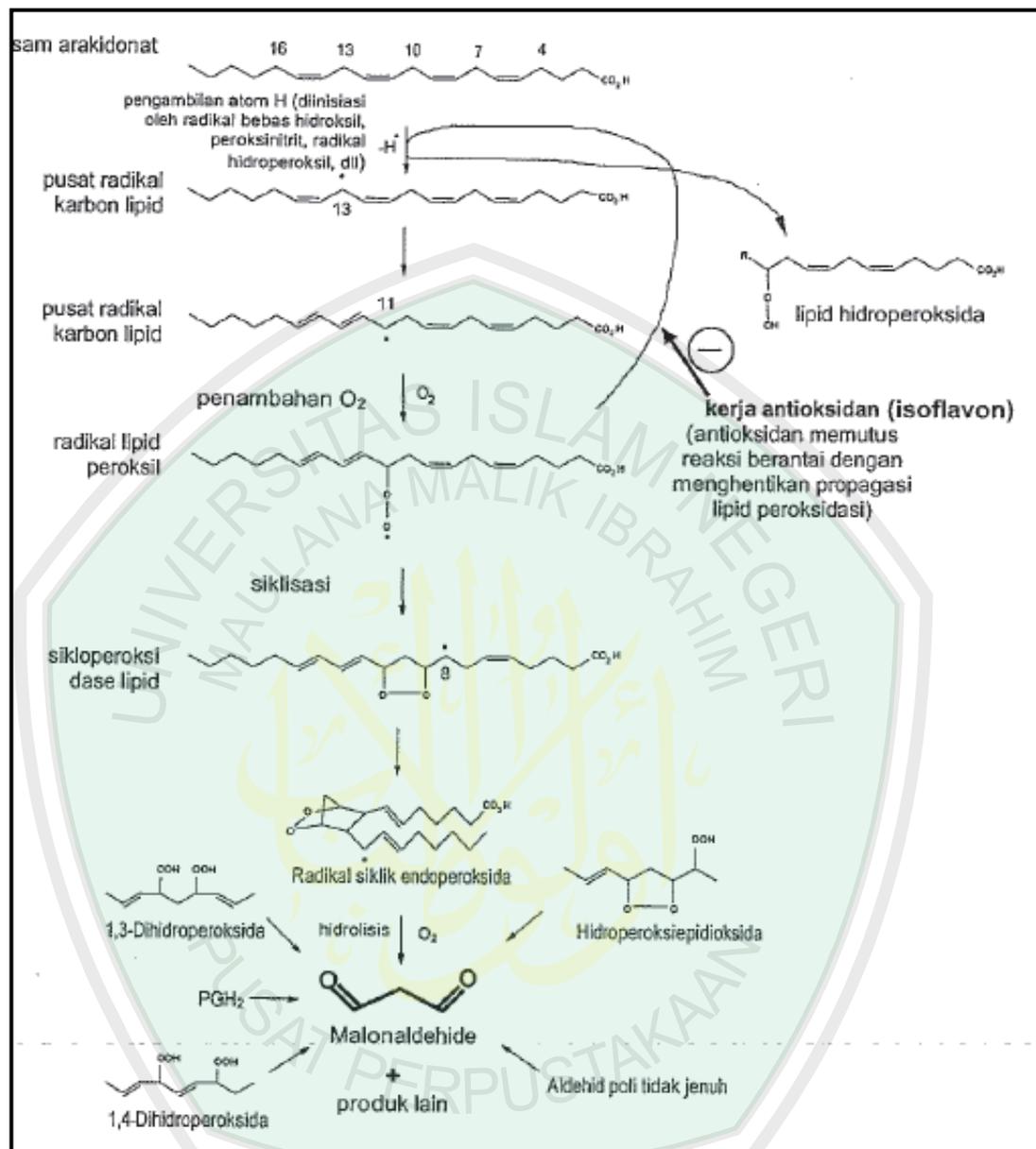
Radikal bebas pertama kali akan menyerang membran sel hepar yang tersusun atas fosfolipid sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran. Menurut Campbell (2004), fosfolipid dan kolesterol merupakan dasar struktur membran, sementara protein mempunyai tugas-tugas khusus seperti membantu mengangkut molekul-molekul melintasi membran sel. Ceska (2000) menyatakan bahwa komponen yang paling sering diserang oleh radikal bebas adalah lipid dari sel. Proses ikatan radikal bebas dengan lipid tersebut menyebabkan proses yang disebut peroksidasi lipid. Adanya peroksidasi lipid yang berlebihan akan menyebabkan berbagai efek biologis yang merugikan, salah satunya adalah kanker.



Gambar 11. Struktur dari membran sel (Campbell, 2004).

Dari gambar 11 di atas dapat dilihat bahwa struktur utama dari membran sel adalah fosfolipid dua lapis. Lipid yang terdapat dalam membran sel mengandung ikatan tak jenuh ganda (PUFA) yang sangat rentan terhadap oksidasi (Campbell, 2004). Adanya aktivitas radikal bebas yang terlalu tinggi, dalam hal ini adalah DMBA dapat menyebabkan stress oksidatif.

Malondialdehyde (MDA) merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh yang dapat dihasilkan melalui oksidasi oleh senyawa radikal bebas, dalam penelitian ini zat radikal bebas yang dimaksud adalah DMBA. Mekanisme pembentukan MDA selama proksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) dijelaskan oleh Suarsana (2009) dalam gambar 12 di bawah ini.

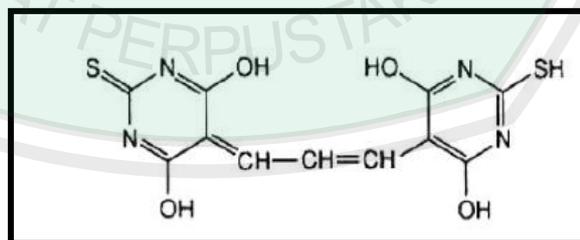


Gambar 12. Mekanisme pembentukan MDA selama proksidasi lipid dari asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) (Suarsana, 2009).

Menurut Yomes (2006), radikal peroksil dapat menyerang seluruh molekul hayati khususnya molekul asam lemak. Peroksidasi molekul asam lemak dapat dihentikan dengan membentuk senyawa yang stabil yakni *Malondialdehyde* (MDA). Senyawa MDA ini dapat membentuk ikatan silang dengan berbagai

molekul dan merupakan penanda toksisitas sel, mutagenesis, dan penguraian lipid pada membran sel. Antar senyawa MDA dapat berpolimerasi dan juga produk penguraian jaringan lain dengan membentuk pigmen terlarut dan terakumulasi di dalam jaringan yang sudah tua. Analisis MDA dapat dilakukan dengan metode uji TBA (*Thiobarbituric Acid Reaction*).

MDA dapat bereaksi melalui penambahan nukleofilik dengan TBA membentuk senyawa kompleks MDA-TBA berwarna merah muda dan diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm (Yomes, 2006) (Gambar 13). Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid, karena mempunyai kepekaan yang cukup tinggi, mudah diaplikasikan untuk berbagai sampel pada berbagai tahap oksidasi lipid dan biayanya tidak mahal (Prasetyawati, 2003). Oleh karena itu, untuk mengukur aktifitas radikal bebas, pada penelitian ini digunakan MDA sebagai alat pengukur aktivitas lipid peroksida pada mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen.



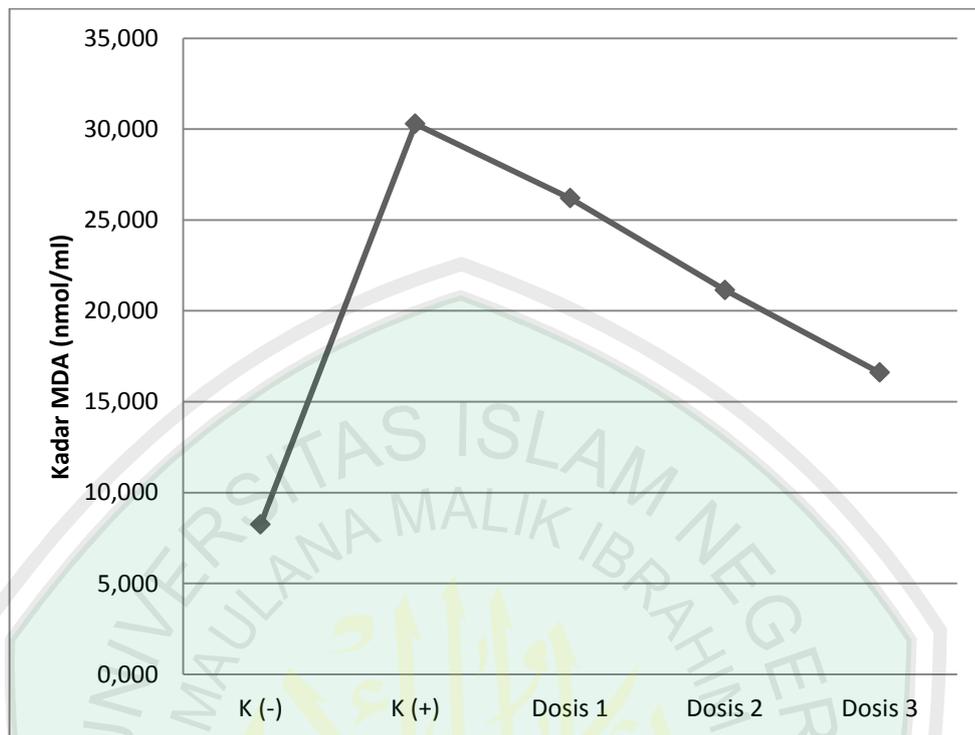
Gambar 13. Struktur kimia kompleks MDA-TBA (Yomes, 2006).

Kadar normal MDA dalam penelitian ini adalah sebesar 8,25 nmol/ml. Kadar normal ini dilihat dari nilai rata-rata mencit betina yang diberi perlakuan kontrol negatif. Setelah diinduksi 20 mg/kg BB DMBA, kadar MDA masing-

masing mencit dari setiap perlakuan mengalami peningkatan yaitu  $16,607 \pm 0,759$  nmol/ml sampai  $30,286 \pm 1,027$  nmol/ml.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas peroksidasi lipid pada hepar mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen meningkat dibandingkan mencit normal. Hal ini ditunjukkan oleh rata-rata kadar MDA pada hepar mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen yakni sebesar  $30,286 \pm 1,027$  nmol/ml. Jumlah rata-rata tersebut jauh lebih besar dibandingkan rata-rata kadar MDA yang terdapat pada hepar mencit normal yakni sebesar  $8,25 \pm 0,539$  nmol/ml.

Pemberian ekstrak etanol daun sirsak dengan tiga dosis yang berbeda menunjukkan penurunan kadar MDA hepar mencit. Dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis I (100 mg/kg BB) rata-rata MDA hepar mencit menjadi sebesar  $26,197 \pm 1,011$  nmol/ml, dan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis II (150 mg/kg BB) rata-rata kadar MDA hepar mencit menjadi sebesar  $21,143 \pm 0,867$  nmol/ml. Sedangkan dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis III (200 mg/kg BB) rata-rata kadar MDA hepar mencit menjadi sebesar  $16,607 \pm 0,759$  nmol/ml. Ketiga dosis tersebut memiliki kemampuan yang berbeda dalam menurunkan kadar MDA hepar mencit. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang digunakan, semakin besar pula kemampuan ekstrak tersebut dalam menurunkan kadar MDA hepar mencit. Pada penelitian ini, dosis yang efektif untuk menurunkan kadar MDA hepar mencit adalah dosis III (200 mg/kg BB). Dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis III telah mampu menurunkan kadar MDA hepar mencit sampai mendekati kadar normal. Berikut ini adalah kurva rata-rata kadar MDA dari setiap perlakuan (Gambar 14).



Gambar 14. Rata-rata kadar MDA dengan perlakuan yang berbeda.

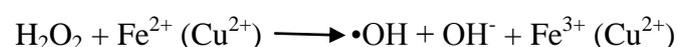
Setelah pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam tiga dosis yang berbeda menunjukkan penurunan kadar MDA dibandingkan mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen tanpa perlakuan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.). Perbandingan antara kadar MDA hepar mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen setelah diberi perlakuan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat dilihat pada tabel 4.1. di atas. Perbedaan dosis ekstrak etanol daun sirsak yang diberikan berpengaruh dalam menurunkan kadar MDA pada hepar mencit karena ekstrak etanol daun sirsak mengandung zat-zat yang berfungsi sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan penjelasan Vianandra (2011), daun sirsak (*Annona muricata*) mengandung berbagai macam senyawa kimia seperti alkaloid,

saponin, asam lemak, minyak esensial, flavonoid, triterpenoid, fitosterol dan senyawa polifenol yang kemungkinan besar juga memiliki efek antikarsinogenesis. Selain itu daun sirsak (*Annona muricata*) juga memiliki kemampuan sebagai antioksidan yaitu senyawa flavonoid.

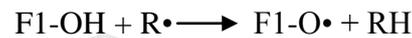
Penurunan kadar MDA diduga terjadi karena senyawa isoflavon (golongan flavonoid) ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) mampu mencegah terjadinya peroksidasi lipid meskipun belum mencukupi untuk melawan berlebihnya pembentukan radikal bebas. Menurut Suarsana (2009), Isoflavon ekstrak etanol daun sirsak bekerja secara sinergis dengan enzim antioksidan intrasel sehingga aktivitas enzim antioksidan yang terdapat pada hepar dapat dipertahankan untuk tidak turun secara drastis. Fungsi flavonoid secara umum dalam menetralkan radikal bebas yang terbentuk di dalam tubuh diduga melalui mekanisme kapasitas antioksidan dan stimulasi gen yang bertanggung jawab terhadap sintesis enzim antioksidan.

Simamora (2009) menjelaskan bahwa Flavonoid memiliki kriteria sebagai antioksidan, adapun mekanisme aksi flavonoid tersebut adalah sebagai berikut:

1. Flavonoid menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida, misalnya xantin oksidase dan protein kinase. Selain itu, flavonoid juga mengikat logam aktif yang terlibat dalam reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Logam aktif tersebut seperti ion besi bebas dan tembaga bebas meningkatkan terjadinya oksidasi seperti yang ditunjukkan pada pembentukan radikal OH dalam reaksi di bawah ini:



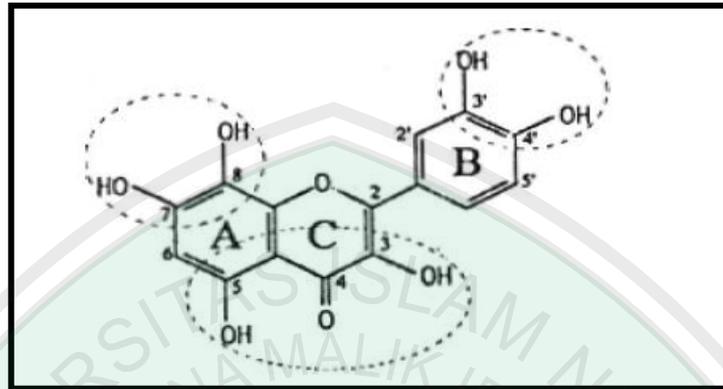
2. Flavonoid mempunyai nilai potensial reduksi yang rendah sehingga mudah mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil dan hidroksil. Mekanisme dijalankan melalui donasi atom H



Radikal aroksil (F1-O•) dapat bereaksi dengan radikal kedua menghasilkan struktur quinon yang stabil. Namun demikian radikal aroksil juga dapat bereaksi oksigen menghasilkan quinon dan anion superoksida. Kapasitas flavonoid sebagai antioksidan tidak hanya bergantung pada potensial reduksi F1-OH, tapi juga kemungkinan terjadinya reaksi samping pada radikal aroksil. Selain dengan cara memadamkan radikal, flavonoid dapat menstabilkan radikal-radikal bebas yang terlibat dalam proses oksidasi dengan cara berikatan kompleks dengan senyawa flavonoid (Simamora, 2009).

Yomes (2006) menyatakan bahwa flavonoid merupakan hasil metabolisme sekunder polifenol. Flavonoid dapat menghambat aktivitas biologi diantaranya anti alergi, anti virus dan anti peradangan. Sedangkan efek farmakologi, telah dihubungkan dengan sifat antioksidan molekul ini, yaitu dapat menekan bentuk spesies oksigen reaktif dengan menghambat enzim, mencegah spesies radikal khususnya spesies oksigen reaktif dan melindungi sel dari antioksidan yang bersifat radikal. Antioksidan flavonoid berfungsi sebagai pencegahan radikal bebas dengan mendonorkan atom hidrogen. 3',4'-dihidroksi pada cincin B merupakan target radikal bebas yang bermanfaat sebagai antioksidan. Ikatan ganda karbon C-2 dan C-3 berkonjugasi dengan gugus 4-keto yang responsible untuk perpindahan elektron pada cincin B dan meningkatkan kapasitas

pengecahan radikal. Sedangkan 7,8-dihidroksi pada cincin A akan menurunkan aktivitas radikal bebas (gambar 15).



Gambar 15. Struktur Kimia Flavonoid (Yomes, 2006).

Setelah diketahui flavonoid dari daun sirsak yang berfungsi sebagai antioksidan di atas, pada penelitian ini diharapkan daun sirsak mampu menurunkan kadar MDA pada hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen. Dari hasil penelitian, dapat diketahui rata-rata kadar MDA terendah pada perlakuan pemberian teh hijau dengan dosis 3 (200 mg/kg BB/oral/hari) yakni sebesar  $16,607 \pm 0,759$  nmol/ml.

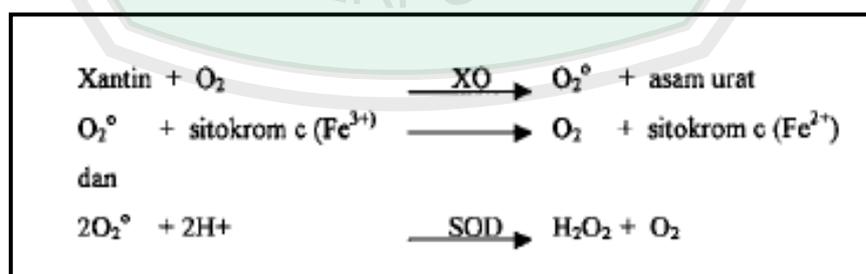
Pada hasil uji Beda Nyata Terkecil (BNT) tampak bahwa antara D1, D2, dan D3 berbeda nyata dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ketiga dosis ekstrak etanol daun sirsak telah efektif menurunkan aktivitas radikal bebas pada hepar mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen sampai dengan kadar yang mendekati normal. Hal ini juga berpengaruh terhadap kadar *Superoksida Dismutase* (SOD) hepar mencit betina, dimana aktivitasnya berlawanan dengan aktivitas *Malondialdehyde* (MDA). Dalam penelitian ini, kadar SOD meningkat seiring dengan pertambahan dosis, kecuali dosis empat.

Mekanisme flavonoid dalam meningkatkan antioksidan enzimatis ini dibahas pada subbab 4.2.2.

#### 4.2.2. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi Dimetilbenz ( $\alpha$ ) Antrasen

Analisis kadar enzim Superoksida Dismutase (SOD) dalam sampel hepar tikus yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen ditentukan berdasarkan pengukuran enzim secara tidak langsung, dengan menggunakan metode spektrofotometri. Untuk menganalisis enzim ini, dipakai sistem xantin atau xantin oksidase yang menghasilkan anion superoksida.

Pernyataan di atas sesuai dengan pendapat Prasetyawati (2003), bahwa aktivitas SOD diukur berdasarkan laju penghambatan sitokrom c oleh anion superoksida yang dihasilkan oleh xantin atau xantin oksidase. Oksidasi xantin menghasilkan asam urat dan anion superoksida, yang selanjutnya mereduksi sitokrom c (gambar 16). Reduksi sitokrom c diamati berdasarkan kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 550 nm.

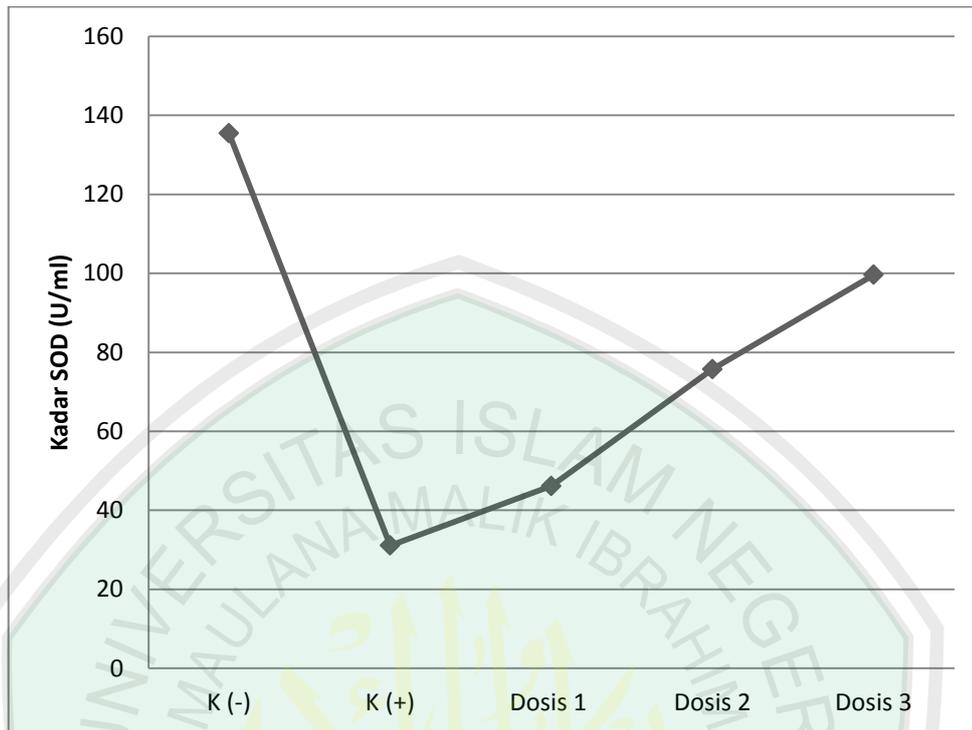


Gambar 16. Reaksi pengukuran kadar SOD (Prasetyawati, 2013)

Analisis kandungan Superoksida Dismutase (SOD) menggunakan spektrofotometer menunjukkan bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun

sirsak (*Annona muricata* L.) yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen (DMBA) ternyata dapat meningkatkan kadar SOD dalam hepar dibandingkan dengan kelompok mencit betina yang tidak diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.). Peningkatan tertinggi ditunjukkan oleh kelompok mencit yang diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L) perlakuan dosis 3 (DMBA+200 mg/kg BB/oral/hari) selama 8 minggu yakni sebesar  $99,6 \pm 3,574$  U/ml. Kemudian peningkatan SOD selanjutnya terdapat pada perlakuan dosis 2 (DMBA+150 mg/kg BB/oral/hari) sebesar  $75,75 \pm 4,686$  U/ml. Peningkatan SOD terendah dimiliki oleh kelompok mencit yang diberi perlakuan dosis 1 (DMBA+100 mg/kg BB/oral/hari) sebesar  $46,15 \pm 3,155$  U/ml.

Analisis uji Beda Nyata Terkecil (BNT) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan induksi DMBA berpengaruh nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap aktivitas superoksida dismutase hepar mencit betina percobaan (Lampiran 3). Uji selanjutnya dengan Duncan menunjukkan bahwa kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dosis I, dosis II, dan dosis III terdapat perbedaan yang sangat nyata. Berikut ini adalah kurva rata-rata kadar SOD dari setiap perlakuan (Gambar 17).



Gambar 17. Rata-rata kadar SOD dengan perlakuan yang berbeda.

Hasil penelitian pada kurva 17 menunjukkan bahwa aktivitas *Superoksida Dismutase* (SOD) pada hepar mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen menurun dibandingkan mencit normal. Hal ini ditunjukkan oleh rata-rata kadar SOD pada hepar mencit yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen yakni sebesar  $31,1 \pm 3,333$  U/ml. Jumlah rata-rata tersebut jauh lebih kecil dibandingkan rata-rata kadar SOD yang terdapat pada hepar mencit normal yakni sebesar  $135,4 \pm 3,468$  U/ml.

Penurunan kadar SOD ini disebabkan oleh adanya senyawa radikal bebas, yaitu DMBA. Karena DMBA mampu membentuk DNA *adduct* (DNA yang mampu berikatan dengan senyawa karsinogenik). Menurut Dandekar (1986), metabolit DMBA yang membentuk DNA *adduct* menentukan mutasi dalam gen

dan mampu mengendalikan siklus sel, sehingga mendorong pembelahan sel kanker. Senyawa *epoxide* tersebut nantinya akan berikatan secara kovalen dengan gugus amino eksosiklik deoksiadenosin (dA) atau deoksiguanosin (dG) pada DNA. Interaksi DNA *adduct* ini dapat menginduksi mutasi pada gen-gen penting sehingga menyebabkan inisiasi metabolit yang nantinya menyebabkan mutasi somatik. Hal ini memungkinkan gen yang bertugas memproduksi enzim antioksidan tidak dapat mensintesis lagi. Akibatnya kadar antioksidan enzimatik, khususnya kadar SOD menjadi turun.

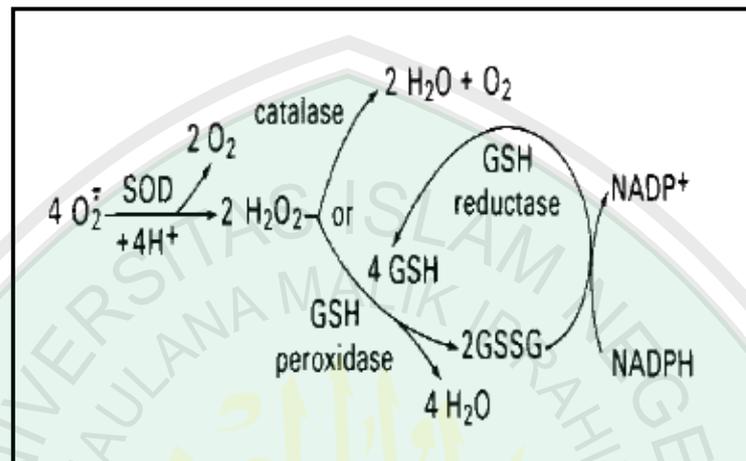
Pemberian ekstrak etanol daun sirsak dengan tiga dosis yang berbeda menunjukkan peningkatan kadar SOD hepar mencit. Dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis I (100 mg/kg BB) rata-rata kadar SOD hepar mencit menjadi sebesar  $46,15 \pm 3,155$  U/ml, dan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis II (150 mg/kg BB) rata-rata kadar SOD hepar mencit menjadi sebesar  $75,75 \pm 4,686$  U/ml. Sedangkan dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis III (200 mg/kg BB) rata-rata kadar SOD hepar mencit menjadi sebesar  $99,6 \pm 3,574$  U/ml. Ketiga dosis tersebut memiliki kemampuan yang berbeda dalam meningkatkan kadar SOD hepar mencit. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin besar pula kemampuan ekstrak tersebut dalam meningkatkan kadar SOD hepar mencit. Pada penelitian ini, dosis yang efektif untuk meningkatkan kadar SOD hepar mencit adalah dosis III (200 mg/kg BB). Karena, dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak dosis III telah mampu meningkatkan kadar SOD hepar mencit sampai mendekati kadar normal.

Pada uji kadar *malondialdehyde* (MDA) perlakuan kontrol positif, dimana perlakuannya hanya diinduksi DMBA tanpa pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat meningkatkan radikal bebas dalam tubuh. Peningkatan radikal bebas dapat menurunkan kandungan SOD sebagai enzim antioksidan dalam tubuh (antioksidan endogen). Pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) ternyata dapat membantu kinerja dari enzim SOD dalam melawan radikal bebas tersebut, sehingga penurunan kandungan SOD dalam tubuh dapat dicegah secara nyata.

Peningkatan SOD pada kelompok mencit yang diberi ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dibandingkan dengan kelompok mencit yang hanya diberi DMBA memiliki hubungan dengan kemampuan antioksidan senyawa flavonoid daun sirsak. Komponen senyawa flavonoid daun sirsak dimungkinkan dapat bekerja secara sinergis bersama dengan enzim SOD dalam menetralkan radikal bebas endogen sehingga kadar SOD hepar mencit tidak menurun drastis seperti kontrol positif. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyastuti dan Nyoman (2012), yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid mampu merangsang ekspresi Cu-Zn SOD yang berfungsi melindungi sel dari serangan stress oksidatif sehingga tidak terbentuk peroksidasi lipid yang berkepanjangan.

Nurawati (2002) menyatakan bahwa enzim SOD memegang peranan penting sebagai antioksidan endogen. Berdasarkan mekanismenya, enzim ini digolongkan sebagai antioksidan primer yang berperan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Aktivitas SOD bervariasi pada beberapa organ tikus,

terdapat dalam jumlah tertinggi dalam hepar, kemudian berturut-turut dalam kelenjar adrenal, ginjal, darah, limpa, pankreas, otak, paru-paru, lambung, usus, ovarium, timus, dan lemak (Gambar 18).

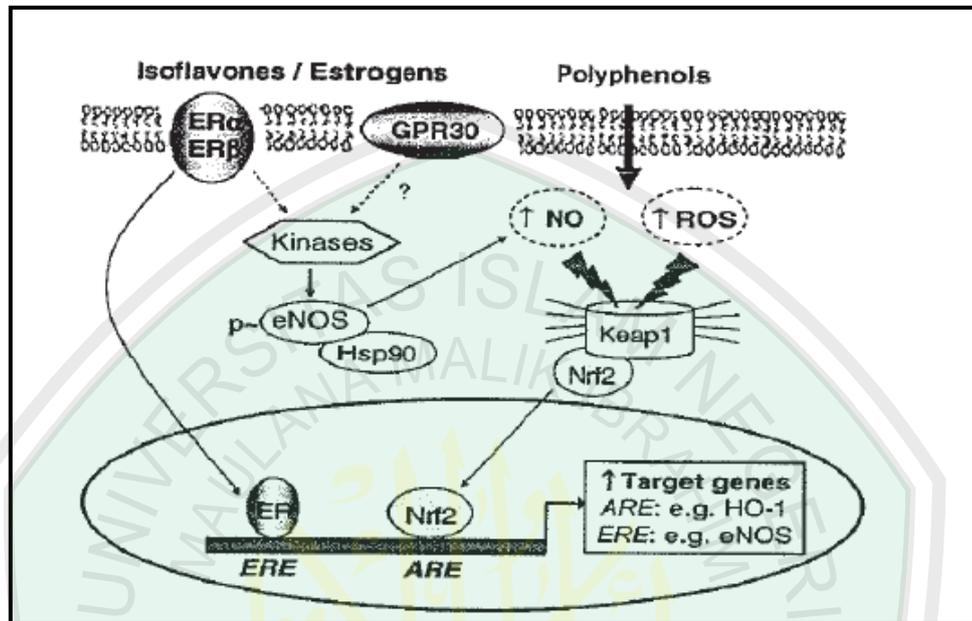


Gambar 18. Cara kerja enzim pertahanan tubuh terhadap radikal bebas (Nurawati, 2002)

Radikal bebas khususnya anion superoksida dapat dihasilkan secara alami dalam tubuh, merupakan hasil reduksi satu elektron oksigen dan dapat terjadi pada hampir semua sel aerobik yang menjalankan transfer elektron. Peningkatan jumlah radikal anion superoksida dapat terjadi di bawah kondisi stress yang diberikan. Jika radikal bebas ini dalam jumlah yang berlebihan sedangkan jumlah antioksidan enzimatis tetap atau lebih sedikit maka kelebihanannya tidak bisa dinetralkan dan berakibat pada kerusakan sel (Prasetyawati, 1999).

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam meningkatkan enzim SOD dijelaskan oleh Sugito (2012) bahwa kenaikan kadar SOD di dalam hepar disebabkan karena adanya komponen fenolik yang menginduksi gen enzim antioksidan, kemudian menginduksi *antioxidant receptor elemen* (ARE) dan menginduksi DNA untuk memproduksi enzim antioksidan. Komponen fenolik

pada suatu tanaman diduga mampu memicu terekspresinya gen enzim antioksidan seperti Mn-SOD, Cu/Zn-SOD hepar, sehingga aktivitasnya meningkat.



Gambar 19. Nitrik oksida sebagai mediator aktivasi transkripsi gen antioksidan yang diinduksi oleh isoflavon (Mann *et al.*, 2007).

Berdasarkan gambar 19 di atas, Mann *et al.*, (2007) menjelaskan bahwa dengan mengkonsumsi senyawa isoflavon (golongan flavonoid) dapat mengaktifasi eNOS (endotel nitrik oksida sintase). Akibat aktivasi ini, sel endotel akan menghasilkan nitrik oksida (NO). Nitrik oksida ternyata mempunyai peran penting dalam ekspresi gen antioksidan enzimatis yang dimediasi oleh Nrf2.

Mann *et al.*, (2007) menjelaskan pada gambar 19 di atas, nitrik oksida bertindak sebagai mediator aktivasi transkripsi gen antioksidan enzimatis yang diinduksi oleh isoflavon (golongan flavonoid). Senyawa isoflavon berikatan dengan reseptor estrogen (ER)  $\beta$  pada permukaan membran sel kemudian secara reaksi cascade dapat mengaktifkan kinase intrasel, menyebabkan aktivasi secara

cepat menghasilkan eNOS dan NO. Meningkatnya kadar NO atau peroksinitrit akan memodifikasi residu sistein pada protein Keap-1 (*Kelch ECH associating protein*) menyebabkan pelepasan dan translokasi faktor transkripsi Nrf2 ke dalam inti. Nrf2 berikatan dengan ARE (*antioxidant response element*) atau dengan EpRE (*electrophile response element*) pada daerah promotor dari gen target sehingga dapat menginduksi enzim antioksidan enzimatis, seperti SOD, GPx dan NQO1 (*NADPH quinone oxidoreductase 1*).

Hasil penelitian Singh *et al.*, (2002) menunjukkan bahwa komponen asam ferulat, cafeat sinapat dan flavonoid pada tanaman sorgum, memiliki reaktivitas yang tinggi untuk memicu terekspresinya enzim SOD. Jadi dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebanyak 100 mg/kg BB sudah bisa meningkatkan kadar SOD hepar secara nyata.

Senyawa lain pada ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) yang mempunyai kemampuan untuk mencegah kanker hepar adalah acetogenins. Retnani (2011) menyatakan bahwa kandungan acetogenins dalam *Annona muricata* memiliki efek kuratif terhadap sel kanker melalui mekanisme inhibisi kompleks 1 mitokondria yang akan mengganggu proses transfer elektron. Inhibisi kompleks 1 mitokondria oleh acetogenins akan menyebabkan menurunnya produksi ATP. Penurunan jumlah ATP tersebut justru akan menginduksi terjadinya apoptosis. Selain itu hipoksia akibat penurunan ATP juga dapat mengaktifkan p53, suatu tumor suppressor genes, yang menyebabkan terhentinya siklus sel pada fase G1 sehingga dapat mencegah proliferasi sel yang berlebihan.

Berdasarkan penjelasan mengenai peningkatan kadar SOD dan penurunan MDA di atas diketahui bahwa perlakuan kontrol negatif, perlakuan dosis I, perlakuan dosis II, dan perlakuan dosis III berbeda nyata dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ketiga dosis ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) telah efektif menurunkan aktivitas radikal bebas dan mampu meningkatkan antioksidan enzimatis pada hepar mencit betina yang diinduksi dimetilbenz ( $\alpha$ ) antrasen sampai mendekati kadar normal. Untuk dosis yang dapat meningkatkan kadar SOD paling rendah adalah dosis I (100 mg/kg BB/oral/hari) yakni sebesar 46,15 U/ml. Dosis tersebut jika dikonversikan pada manusia (dengan BB 70 kg) adalah mengalikan dengan faktor konversi yaitu sebesar 387, 9 (Kusumawati, 2004). Hasil dari pengkonversian tersebut adalah  $38790 \text{ mg} = 38,790 \text{ gram}$  ekstrak etanol daun sirsak.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa daun sirsak mempunyai kemampuan yang efektif dalam menurunkan kadar MDA hepar mencit dan meningkatkan kadar SOD hepar mencit. Bukti ini menunjukkan bahwa tanaman sirsak memiliki manfaat dalam mencegah terjadinya penyakit. Hal ini sesuai dengan firman Allah SWT dalam QS. Asy Syuaraa ayat 7-8 yang berbunyi :

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُؤْمِنِينَ ﴿٨﴾

*“Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu pelbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. dan kebanyakan mereka tidak beriman”.*

Allah menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan di muka bumi untuk memenuhi kebutuhan manusia baik digunakan sebagai makanan, minuman maupun sebagai obat. Dengan adanya manfaat pada tumbuhan merupakan salah satu keagungan Allah dalam penciptaannya bagi orang-orang yang selalu berfikir. Ayat alquran di atas menjelaskan bahwa Allah SWT menumbuhkan berbagai jenis tumbuhan yang baik. Tumbuhan yang baik dalam hal ini adalah tumbuhan yang dapat dimanfaatkan untuk kehidupan manusia misalnya untuk obat. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat adalah sirsak (*Annona muricata* L.).

Ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diberikan kepada mencit perlakuan dengan empat dosis yang berbeda. Tetapi hanya tiga dosis yang dibahas. Karena data pada dosis empat masih diragukan kebenarannya. Mencit betina pada dosis 1V memiliki rata-rata kadar SOD paling tinggi yaitu 118 U/ml dan memiliki rata-rata kadar MDA terendah yaitu sebesar 13,500 nmol/ml. Secara teori nilai rata-rata kadar SOD dan kadar MDA tersebut menunjukkan bahwa mencit betina pada perlakuan dosis IV dalam keadaan yang baik. Tapi kenyataan di lapangan berbeda, karena mencit-mencit tersebut mati sebelum masa perlakuan berakhir. Mencit betina pada dosis empat kelihatan lebih kurus daripada mencit betina pada perlakuan yang lain.

Sebelum mengalami kematian, peneliti mengetahui bahwa mencit pada perlakuan dosis IV tubuhnya gemetar dan suhu tubuhnya agak dingin. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan, seperti kesalahan dalam pengukuran kadar MDA dan kadar SOD, dan adanya perubahan sifat antioksidan

menjadi prooksidan. Selain itu, peneliti juga berpendapat bahwa dosis yang diberikan terlalu tinggi, sehingga mencit-mencit tersebut mengalami kematian. Dosis yang tinggi pada daun sirsak bisa menyebabkan mual dan pusing. Apabila perlakuan ini diteruskan akan membuat keadaan mencit semakin parah.

Dari segi anatomi, hampir semua mencit pada perlakuan dosis IV mengalami kerusakan organ. Organ-organ yang mengalami kerusakan parah adalah paru-paru, saluran pencernaan dan hepar. Kerusakan organ ditandai dengan hancurnya organ dan perubahan warna dari organ tersebut. Hepar yang seharusnya berwarna merah berubah menjadi berwarna hitam. Hal ini sesuai dengan pendapat Arianti (2012), bahwa dosis yang berlebihan bisa menyebabkan perubahan sel dan nekrosis. Nekrosis adalah kematian sel akibat perlakuan jaringan yang didahului dengan kerusakan sel-sel hepar, gangguan integritas membrane plasma, keluarnya isi sel, dan timbulnya respon inflamasi yang menyebabkan banyak sel mati.

Oleh karena itu, dosis yang diberikan harus tepat agar mencit tidak mengalami overdosis. Sebagaimana disebutkan dalam firman Allah SWT dalam QS. Al-A'raf ayat 31 berikut ini :

﴿ يَبْنَى ءآءَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا

تُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴿٣١﴾

*“Hai anak Adam, pakailah pakaianmu yang indah di setiap (memasuki) mesjid, Makan dan minumlah, dan janganlah berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berlebih-lebihan”.*

Syihab (2007) menjelaskan bahwa ditemukan banyak sekali tuntutan baik dari Al Quran maupun hadis Nabi Muhammad SAW yang memberi petunjuk kepada umatnya mengenai bahaya makan dan minum secara berlebihan. Perbuatan berlebih-lebihan yang melampaui batas itu selain merusak dan merugikan juga tidak disukai Allah. Setiap pekerjaan yang tidak disukai Allah kalau dikerjakan juga akan mendatangkan bahaya, baik bagi diri sendiri maupun makhluk hidup yang lain. Makna kata-kata “janganlah berlebih-lebihan” dalam hal ini adalah ketika memberikan dosis ekstrak etanol daun sirsak tidak boleh berlebihan atau dalam kadar yang terlalu tinggi. Pemberian dosis yang terlalu tinggi justru membuat mencit mengalami overdosis, sehingga menyebabkan mencit mati sebelum perlakuan selesai. Oleh karena itu, dalam memberikan dosis ekstrak etanol daun sirsak harus tepat. Agar khasiatnya dalam mencegah maupun mengobati penyakit kanker bisa lebih efisien.

Dalam Al-Qur'an banyak terdapat ayat-ayat yang menyerukan manusia untuk memperhatikan, merenung dan memikirkan penciptaan Allah baik yang di langit, bumi maupun diantara keduanya. Di antara ayat-ayat yang menerangkan tentang hal tersebut yaitu Q.S Ali Imran ayat 190-191 yang berbunyi :

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتَلَفِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ  
 الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ  
 السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

*“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya*

*berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka"*.

Ayat 190 menjelaskan bahwa sesungguhnya dalam tatanan langit dan bumi serta keindahan perkiraan dan keajaiban ciptaan-Nya juga dalam silih bergantinya siang dan malam secara teratur sepanjang tahun yang dapat kita rasakan langsung pengaruhnya pada tubuh kita dan cara berpikir kita karena pengaruh panas matahari, dinginnya malam, dan pengaruhnya yang ada pada dunia flora dan fauna merupakan tanda dan bukti yang menunjukkan keesaan Allah, kesempurnaan pengetahuan dan kekuasaan-Nya (Avivah, 2012). Salah satunya adalah bukti kemampuan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam mencegah penyakit kanker hepar.

Ayat 191 mendefinisikan orang-orang yang mendalam pemahamannya dan berpikir tajam (Ulul Albab), yaitu orang yang berakal, orang-orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah, hidayah, dan menggambarkan keagungan Allah. Ia selalu mengingat Allah (berdzikir) disetiap waktu dan keadaan, baik di waktu ia berdiri, duduk atau berbaring (Avivah, 2012). Jadi dijelaskan dalam ayat ini bahwa ulul albab yaitu orang-orang baik lelaki maupun perempuan yang terus menerus mengingat Allah dengan ucapan atau hati dalam seluruh situasi dan kondisi.

Dari keterangan di atas dapat diketahui bahwa objek dzikir adalah Allah, sedangkan objek pikir adalah makhluk-makhluk Allah berupa fenomena alam. Ini berarti pengenalan kepada Allah lebih banyak didasarkan kepada kalbu, Sedangkan pengenalan alam raya oleh penggunaan akal, yakni berpikir. Akal memiliki

kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam, tetapi ia memiliki keterbatasan dalam memikirkan Dzat Allah.

QS. Ali-Imran ayat 190-191 di dalamnya memiliki kandungan hukum yaitu Allah mewajibkan kepada umatnya untuk menuntut ilmu dan memerintahkan untuk mempergunakan pikiran kita untuk merenungkan alam, langit dan bumi (yakni memahami ketetapan-ketetapan yang menunjukkan kepada kebesaran Al-Khaliq, pengetahuan) serta pergantian siang dan malam. Yang demikian ini menjadi tanda-tanda bagi orang yang berpikir, bahwa semua ini tidaklah terjadi dengan sendirinya. Kemudian dari hasil berpikir tersebut, manusia hendaknya merenungkan dan menganalisa semua yang ada di alam semesta ini, sehingga akan tercipta ilmu pengetahuan.