

## EKSTRAK DAUN KESUM (*Polygonum minus*) MEMPERBAIKI KERUSAKAN PARU MELALUI DITEKANNYA PRODUKSI REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS)

### *The Extract of Kesum Leaf (*Polygonum minus*) Repair the Lung Injury through Pressed Reactive Oxygen Species (ROS) Production*

Muhamad Agus Wibowo<sup>1</sup>, M. Aris Widodo<sup>2</sup>, Basuki B. Purnomo<sup>3</sup>, dan Aulanni'am<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura, Pontianak

<sup>2</sup>Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

<sup>3</sup>Laboratorium Bedah/Bagian Urologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

<sup>4</sup>Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang

E-mail:

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan membandingkan efek pemberian fraksi *n*-heksan, etilasetat, dan metanol dari ekstrak daun kesum dalam memperbaiki kerusakan organ paru akibat paparan benzopirena. Penelitian dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan hewan model terpapar benzopirena. Pembuatan hewan model kanker terpapar benzopirena dilakukan secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kg yang dilanjutkan dengan pengobatan menggunakan fraksi *n*-heksana, etil-asetat, dan metanol dari ekstrak daun kesum. Uji keberhasilan penelitian dilakukan dengan pengukuran kadar malondialdehid (MDA) dan pemeriksaan histologis organ paru dengan pewarnaan hematoksilin-eosin (HE). Kadar MDA tikus kontrol; tikus terpapar benzopirena; tikus terapi fraksi *n*-heksana; tikus terapi fraksi etil-asetat; dan tikus terapi fraksi metanol masing-masing adalah 8,44; 6,24; 7,21; 8,47; dan 5,27 ppm. Tingkat kerusakan organ paru tikus kontrol, terpapar benzopirena, terapi fraksi *n*-heksan, terapi fraksi etil-asetat, dan fraksi metanol masing-masing adalah *normal* (0,728), *strong* (3,002), *light* (1,687), *moderate* (2,600), dan *strong* (3,060). Fraksi *n*-heksana merupakan fraksi yang paling bagus dalam memperbaiki kerusakan organ paru hewan model akibat paparan benzopirena.

Kata kunci: kesum, kerusakan paru, benzopirena

#### ABSTRACT

*This study aims to compare the effect of the fraction of n-hexane, ethylacetate, and methanol of the extracts of kesum leaf to repairing lung injury caused by exposure to benzopyrene. The research was carried out as in-vivo by using animal models exposed to benzopyrene. The preparation of the animal models exposed benzopyrene be done by intraperitoneally at a dose of 200mg/kg, and followed by treatment with n-hexane fraction, ethyl-acetate, and methanol of the extracts of kesum leaves. The test of the research carried out by measuring the levels of malondialdehyde (MDA) and histological examination of organ lung with HE staining. The results of the research with a single dose (100 mg / kg) showed that the fraction of n-hexane is the best faction in the repair of the lung injury that caused by exposure benzopyrene.*

Key words: kesum, lung injury, benzopyrene

#### PENDAHULUAN

Benzopirena merupakan polutan lingkungan golongan senyawa *polycyclic aromatic hydrocarbons* (PAH) yang banyak dihasilkan dari pembakaran rokok (Radovanovic dan Mistic, 1998). Benzopirena dapat menyebabkan terjadinya kerusakan organ paru (*lung injury*) dan kanker paru (Aoki *et al.*, 2007; Latif *et al.*, 2011). Kemampuan benzopirena dalam menginduksi terjadinya kerusakan paru dan kanker paru dikarenakan kemampuannya dalam menyebabkan terjadinya inflamasi dan kerusakan *deoxy nucleic acid* (DNA) (Walaszek *et al.*, 2004; Latif *et al.*, 2011).

Induksi inflamasi dan kerusakan DNA oleh benzopirena terjadi melalui peningkatan produksi metabolit reaktif dan *reactive oxygen species* (ROS) pada organ paru (Sarada *et al.*, 2008; Latif *et al.*, 2011). Paparan benzopirena menginduksi produksi enzim *cytochrome p450* (CYP) yang berperan mengatalisis reaksi oksidasi senyawa karsinogen menjadi metabolit reaktif (Aklillu *et al.*, 2005; Magesh *et al.*, 2007). Peningkatan produksi ROS dan inflamasi pada organ paru akibat paparan benzopirena akan menginduksi

terjadinya kerusakan pada organ paru (Brody dan Spira, 2006; Sarada *et al.*, 2008).

Kesum merupakan tanaman yang berpotensi digunakan untuk memperbaiki kerusakan paru dan kanker paru (Mackeen *et al.*, 1997; Wibowo *et al.*, 2011). Kemampuan ini dihasilkan karena ekstrak daun kesum memiliki aktivitas antioksidan, sitotoksik terhadap sel kanker, dan mampu menekan proliferasi sel paru. Uji anti-oksidan dari ekstrak air daun kesum dengan menggunakan metode kalium-ferisianida, *ferric thiocyanate* (FTC), and *thiobarbituric acid* (TBA) menunjukkan bahwa ekstrak daun kesum memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Huda-Faujan *et al.*, 2007). Mackeen *et al.* (1997) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kesum bersifat sitotoksik terhadap sel HeLa, dengan *lethal concentration 50* (LC50) adalah 30 µg/ml. Wibowo *et al.* (2010) menyatakan bahwa fraksi *n*-heksana ekstrak daun kesum dapat menghambat proliferasi sel organ paru hewan model yang terpapar benzopirena. Diduga bahwa ekstrak daun kesum mempunyai potensi untuk mengobati cedera paru akibat paparan benzopirena.

## MATERI DAN METODE

### Ekstraksi dan Fraksinasi Ekstrak Daun Kesum

Bahan tumbuhan yang dipakai dalam penelitian ini adalah daun kesum yang dikumpulkan dari kebun masyarakat Kota Baru, Pontianak. Sebanyak 1,345 kg daun kesum segar yang telah dibersihkan dan diblender kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol selama 2x24 jam. Hasil maserasi (maserat) dikumpulkan jadi satu. Maserat yang diperoleh kemudian difraksinasi berturut-turut dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat hingga diperoleh tiga fraksi *n*-heksana, etil-asetat, dan metanol.

### Perlakuan Hewan Coba

Dalam penelitian ini digunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang berumur 2-3 bulan dengan kisaran berat badan 200-250 g. Hewan percobaan dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu, kelompok A (tikus kontrol sehat, hanya diberi aquades) dan kelompok B (tikus terpapar benzopirena secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kg berat badan selama 4 kali berselang 1 hari dan diinkubasi selama 30 hari). Kelompok hewan coba C-E diperlakukan dengan dipapar benzopyren secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kg berat badan selama 4 kali berselang 1 hari dan diinkubasi selama 30 hari, kemudian diterapi secara berturut-turut dengan fraksi *n*-heksana (C), etil asetat (D), dan metanol (E) dengan dosis 100 mg/kg berat badan selama satu minggu dan diinkubasi selama 7 hari. Terapi terhadap kelompok hewan C-D dilakukan dengan cara mencangkoknya langsung ke dalam lambung tikus dengan menggunakan spuit 5 ml. Pada akhir perlakuan, semua tikus percobaan dikorbankan secara *dislocatio cervicalis*, kemudian dibedah bagian dada dan dilakukan koleksi organ paru. Selanjutnya terhadap organ paru yang diperoleh, dianalisis kadar malondialdehid (MDA) dan dibuat preparat histologis dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE).

### Pengukuran Malondialdehid (MDA).

Dibuat homogenat dari 0,45 g jaringan paru dan ditambahkan 1 ml NaCl dingin 0,9%, dihomogenkan, dan disentrifus pada kecepatan 8000 rpm selama 20 menit hingga diperoleh supernatan. Supernatan diambil sebanyak 100  $\mu$ l dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil dan ditambahkan secara berturut-turut 550  $\mu$ l aquades, 100  $\mu$ l *trichloroacetic acid* (TCA) kemudian dihomogenkan. Ke dalam campuran selanjutnya ditambah 250  $\mu$ l HCl dan 100  $\mu$ l *N-thiobarbiturat* dan selanjutnya dihomogenkan. Setelah campuran homogen maka selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit hingga diperoleh supernatan. Supernatan yang diperoleh kemudian diinkubasi dalam penangas air pada suhu 100° C selama 30 menit. Hasil yang diperoleh kemudian disentrifus dengan kecepatan 500 rpm selama 10 menit hingga diperoleh supernatan. Supernatan yang diperoleh selanjutnya diukur

absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang ( $\lambda_{maks}$ ) 533 nm.

### Analisis Histologi

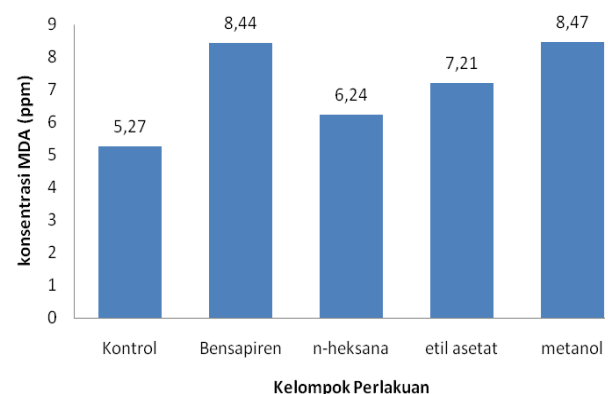
Analisis histologi dilakukan dengan membandingkan semua kelompok percobaan. Penskoran dilakukan dengan mengamati 24 wilayah parenkim paru yang dinilai dengan skala 0-4 (0= *absent and appears normal*; 1= *light*; 2= *moderate*; 3= *strong*; dan 4= *intense*) terhadap adanya kongesti, hemoragi, infiltrasi sel radang, dan edema. Jumlah nilai rata-rata dari keempat variabel dihitung sebagai skor total histopatologis.

### Analisis Data

Hasil pengamatan mikroskopis jaringan dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan antara kelima kelompok perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

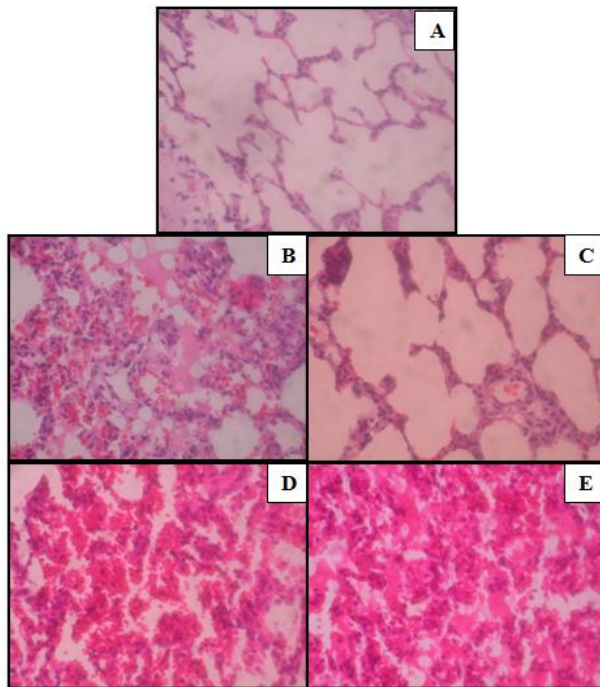
Analisis kadar MDA organ paru dari masing-masing kelompok hewan percobaan disajikan pada Gambar 1. Kadar MDA tikus kontrol; tikus terpapar benzopirena; tikus terapi fraksi *n*-heksana; tikus terapi fraksi etil-asetat; dan tikus terapi fraksi metanol masing-masing adalah 8,44; 6,24; 7,21; 8,47; dan 5,27 ppm. Hasil analisis kadar MDA ini menunjukkan bahwa fraksi metanol merupakan fraksi yang paling baik dalam menekan kadar ROS organ paru hewan coba, yang ditandai dengan rendahnya kadar MDA, kemudian diikuti dengan fraksi etil-asetat sedangkan fraksi metanol ekstrak daun kesum tidak menunjukkan kemampuan dalam menurunkan kadar MDA organ paru hewan coba. Hasil ini memperkuat uji *in vitro* tentang kekuatan anti-oksidan ekstrak daun kesum yang dilakukan oleh Huda-Faujan (2007).



**Gambar 1.** Grafik analisis kadar malondialdehid (MDA) dari kelima kelompok hewan percobaan

Gambaran organ paru dari masing-masing kelompok hewan model secara histologis disajikan pada Gambar 2. Analisis histopatologis terhadap organ paru tikus disajikan pada Tabel 1. Dari nilai total histopatologis menunjukkan bahwa tingkat kerusakan organ paru tikus kontrol, terpapar benzopirena, terapi fraksi *n*-heksan,

terapi fraksi etil-asetat, dan fraksi metanol masing-masing adalah *normal* (0,728), *strong* (3,002), *light* (1,687), *moderate* (2,600), dan *strong* (3,060). Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan merupakan fraksi yang paling bagus dalam memperbaiki terjadinya kerusakan organ paru jika dibandingkan dengan terapi fraksi etil-asetat dan fraksi metanol.



**Gambar 2.** Gambar histologis organ paru tikus percobaan (*Rattus norvegicus*) (A= kontrol, sehat; B= terpapar benzopirena; C= terapi dengan fraksi *n*-heksana; D= terapi dengan fraksi fraksi etil-asetat; E= terapi dengan fraksi methanol, HE, 400x)

Hasil analisis kadar MDA dan histopatologis menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara penurunan kadar MDA dengan tingkat kerusakan organ paru hewan coba. Data kadar MDA dan tingkat kerusakan pada hewan model kontrol, perlakuan benzopirena, terapi fraksi *n*-heksan, terapi fraksi etil-asetat, dan terapi fraksi metanol masing-masing adalah 8,44 ppm (*strong*), 6,24 ppm (*light*), 7,23 ppm (*moderate*), 5,27 ppm (*normal*), dan 8,47 ppm (*strong*). Data di atas menunjukkan bahwa terapi fraksi *n*-heksan memberikan hasil yang lebih baik dalam memperbaiki kerusakan organ paru hewan coba jika dibandingkan dengan fraksi etil-asetat dan fraksi metanol. Hasil ini juga menunjukkan bahwa tingkat kerusakan paru berkorelasi dengan tingginya produksi ROS paru hewan model. Semakin tinggi produksi ROS dalam organ paru akan semakin meningkatkan kerusakan organ paru (Brody dan Spira, 2006; Sarada *et al.*, 2008).

## KESIMPULAN

Fraksi *n*-heksan ekstrak daun kesum dapat memperbaiki kerusakan organ paru hewan coba yang terpapar benzopirena.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui hibah Penelitian Hibah Bersaing (PHB) Tahun Anggaran 2009.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akllilu, E., S. Øvrebø, I.V. Botnen, C. Otter, M. Ingelman-Sundberg. 2005. Characterization of common CYP1B1 variants with different capacity for benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol epoxide formation from benzo[a]pyrene. **Cancer Res.** 65(12):5105-5111.
- Aoki, Y., A.H. Hashimoto, K. Amanuma, M. Matsumoto, K. Hiyoshi, H. Takano, K. Masumura, K. Itoh, T. Nohmi, and M. Yamamoto. 2007. Enhanced spontaneous and benzo(a)pyrene-induced mutations in the lung of Nrf2-deficient *gpt* delta mice. **Cancer Res.** 67(12):5643-5648.
- Brody, J.S. and A. Spira. 2006. Chronic obstructive pulmonary disease, inflammation, and lung cancer. **Proc. Am. Thorac Soc.** 3:535-538.
- Huda-Faujan, N., A. Noriham, A.S. Norrakiah, and A.S. Babji. 2007. Antioxidative activities of water extracts of some Malaysian herbs. **Asean Food J.** 14(1):61-68.
- Latif, I.K., A.J. Karim, A.B. Zuki, M. Zamri-Saad, and M.M. Noordin. 2011. *Nigella sativa* meal alleviates injury against benzo[a]pyrene exposures in broilers. **J. Trop. Agric. Sci.** 34 (1):157-162.
- Mackeen, M.M., A.M. Ali, S.H. El-Sharkawy, M.Y. Manap, K.M. Salleh, N.H. Lajis, and K. Kawazu. 1997. Antimicrobial and cytotoxic properties of some Malaysian traditional vegetables (Ulam). **Pharmaceutical Biol.** 35(3):174-178.
- Magesh, V., R. Venugopal, K.D. Bhavani, and D. Sakthisekaran. 2007. Effect of crocetin on benzo (a) pyrene induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice. **International J. Canc. Research.** 3(3):143-150.
- Radovanovic, B.S., and Z. Mistic. 1998. Gas chromatographic analysis of some toxic organic compounds in mainstream cigarette smoke. **Working and Living Environmental Protection** 1(3):59-65.
- Sarada, S, P. Himadri, C. Mishra, P. Geetali, M.S. Ram, G. Ilavazhagan. 2008. Role of oxidative stress and nfkb in hypoxia-induced pulmonary edema. **Exp. Biol. Med.** 233:1088-1098.
- Walaszek, Z, M. Hanausek, R. Zoltaszek, and T.J. Siaga. 2004. Inhibitory effect of post-initiation dietary d-glucarate on benzo[a]pyrene-induced inflammation during lung tumorigenesis in A/J mice. **Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.** 45 (Abstract)
- Wibowo, MA., MS Anwari, F. Rahman, and Aulanni'am. 2010. Antiproliferation effect of the *n*-heksana extract of kesum (*Polygonum minus*) at the cells of the rat lung cancer : Effort exploiting of kesum as drug of lung cancer. **Media Kedokteran Hewan** 26(2):128-133.
- Wibowo, M.A., B.B. Purnomo, M.A. Widodo, dan Aulanni'am. 2011. Efek anti-neoplasia fraksi etil-asetat ekstrak daun kesum pada hewan model kanker paru. **Jurnal Kedokteran Hewan** 5(1):1-5.