

UJI AKTIVITAS HEPATOPROTEKTOR EKSTRAK DAUN SUKUN DENGAN PARAMETER HEPATOSELULER HEPAR PADA MENCIT BALB/C YANG DI INDUKSI VAKSIN HEPATITIS B

INTISARI

Vivin Nopiyanti¹, Tri Wijayanti¹, Ika Purwidyaningrum¹

¹ FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA

Daun sukun (*Artocarpus altilis*) merupakan salah satu tanaman obat yang diduga memiliki potensi sebagai hepatoprotektor. Dimasyarakat sendiri sudah banyak digunakan dan dilaporkan memiliki banyak kegunaan karena kandungan senyawa-senyawa berkhasiat dalam tanaman tersebut seperti saponin, polifenol, tanin, asam hidrosianat, asetilkolin, riboflavin dan flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek hepatoprotektif dan dosis yang paling efektif dari ketiga varian dosis ekstrak daun sukun pada mencit yang diinduksi vaksin hepatitis B dengan parameter hepatoseluler hepar yaitu persentase nekrosis sel hati.

Tahapan uji Hepatoprotektor dengan 5 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif diberi CMC 1%, kelompok kontrol positif diberi echinacea (imboost) dan kelompok perlakuan hewan uji diberi ekstrak daun sukun dengan dosis I 750mg/KgBB, dosis II 1200mg/KgBB, dosis III 1650mg/KgBB yang diberikan setiap hari per oral. Efek hepatoprotektor diamati dengan perhitungan nekrosis hati dilakukan dengan pembedahan organ hati mencit dan dibuat preparat histopatologis pada hari ke 35 pengukuran

Hasil yang didapat dari penelitian ini yaitu bahwa ekstrak daun sukun dapat memberikan efek hepatoprotektor dengan cara penurunan jumlah nekrosis hati. Berdasar hasil uji statistika dengan menggunakan anova satu arah untuk penurunan persentase nekrosis hati menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun sukun dosis 1200mg/KgBB memberikan efek hepatoprotektor yang paling efektif terhadap mencit jantan yang diinduksi vaksin Hepatitis B.

Kata Kunci: Hepatoprotektor, ekstrak daun sukun, hepatitis B, nekrosis

I. PENDAHULUAN

Tanaman sukun (*Artocarpus Altilis*(Park)Fsb) sendiri sudah banyak digunakan dan dilaporkan memiliki banyak kegunaan karena kandungan senyawa-senyawa berkhasiat dalam tanaman tersebut seperti saponin, polifenol, tanin, asam hidrosianat, asetilkolin, riboflavin dan flavonoid.

Khasiat yang bisa diambil dari tanaman ini antara lain untuk mengobati penyakit liver, hepatitis, sakit gigi, pembesaran limpa, jantung, ginjal, dan sebagai obat penyembuh penyakit kulit, seperti gatal-gatal, bengkak, borok, dan infeksi kulit lainnya. Bagian bunga dapat digunakan sebagai obat sakit gigi. Bahkan, masyarakat Ambon memanfaatkan kulit batangnya untuk

obat mencairkan darah bagi wanita yang baru 8-10 hari melahirkan. Di Trinidad dan Bahama, dekokta dari daun sukun dipercaya dapat menurunkan tekanan darah dan menghilangkan asma. Kunyahan daun sukun muda dikatakan dapat menetralkan racun dalam makanan (Siemonsma dan Pileuk 1992).

Khasiat lain yang bisa diambil dari tanaman ini adalah untuk mengurangi udem karena dalam tanaman ini mengandung flavonoid yang sangat efektif sebagai antiinflamasi. Hal ini didukung dengan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya bahwa aktivitas antiinflamasi dari flavonoid yang berhasil diisolasi dari *Artocarpus communis* dan *Artocarpus Heterophyllus*, secara invitro dapat menghambat pelepasan mediator-mediator kimia dari sel mast, neutrofil dan makrofag (Abdassah *et al* 2009). Lotulung *et al.* (2008) menjelaskan bahwa senyawa flavonoid daun sukun memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker leukimia. Flavonoid sendiri telah diketahui memiliki aktivitas biologis sebagai antiinflamasi, antioksidan, antivirus, hepatoprotektor,

antikanker, dan lain sebagainya (Middelton *et al.* 2009).

Sejauh ini belum banyak penelitian tentang daun sukun sebagai hepatoprotektor. Sehingga pemanfaatan sebagai salah satu hepatoprotektor belum banyak diketahui. Berdasarkan hal tersebut di atas maka perlu dilakukan suatu uji terhadap daun sukun sebagai hepatoprotektor.

II. METODOLOGI

1. Pengambilan bahan

Daun sukun diperoleh secara acak dari dusun klebet, Gondangrejo, Wonorejo, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun yang di ambil adalah daun yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda. Warna daun hijau tua.

2. Determinasi dan deskripsi tanaman

Tahap pertama dari penelitian ini adalah memastikan kebenaran sampel tanaman sukun berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman sukun terhadap kepustakaan dan dibuktikan di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

3. Pembuatan serbuk daun sukun

Daun sukun dikeringkan dalam oven suhu 40°C. Pengeringan bertujuan untuk

mengurangi kadar air sehingga mencegah pembusukkan oleh cendawan atau bakteri. Daun sukun kering diblender dan diayak dengan nomor ayakan 40, kemudian disimpan dalam tempat kering dan tertutup rapat

4. Pembuatan Ekstrak Daun sukun

Serbuk daun sukun sebanyak 500gram di rendam dengan pelarut alkohol 70% selama 3 jam. Kemudian dimasukan kedalam alat perkolator dan diatur dengan ketentuan tetesan 1ml/menit. Ditambahkan alkohol 70% sampai dengan dengan hasil perkolatnya bening. Hasil perkolat diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

5. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sukun

a) Alkaloid, sebanyak 20 ml ekstrak etanol daun sukun diuapkan dengan pemanas air, larutan disaring dengan kertas saring kemudian filtrat yang diperoleh di tambah 5-10 ml asam klorida 10%. Larutan dibasakan dengan amoniak dan di ekstraksi dengan 20 ml kloroform. Kloroform kemudian diuapkan dan ditambah 1,5 ml asam klorida 2%. Larutan ditambahkan 2 tetes pereaksi meyer.

b) Flavanoid, sebanyak 1 ml ekstrak etanol daun sukun ditambah 2ml etanol 95%, 0,5 gram serbuk seng dan 2 ml asam klorida 2 N. Diamkan larutan selama 1 menit dan kemudian ditambahkan 2 ml asam klorida pekat.

c) Saponin, sebanyak 2 ml ekstrak etanol daun sukun dalam tabung reaksi dikocok selam 15 menit.

d) Tanin, sebanyak 1 ml ekstrak daun sukun ditambah 2 ml air dan kemudian ditambahkan besi (III) klorida

6. Pembuatan larutan CMC 1%

Larutan CMC 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram CMC yang telah ditimbang seksama kedalam air sampai volume 100ml. Larutan ini digunakan sebagai kontrol negatif.

7. Pembuatan suspensi imboost

5ml sirup imboost yang berisi ekstrak echinacea dan dimasukan ke dalam labu takar 50 ml, kemudian ditambahkan CMC ad 50ml.

8. Penentuan dosis

Dosis sediaan dihitung dari dosis ampiris yang kemudian dikonversikan ke dalam dosis ekstrak. Dosis I 750mg/KgBB, dosis II 1200mg/KgBB, dosis III 1650mg/KgBB.

9. Pengelompokkan dan perlakuan hewan uji

Lima puluh ekor mencit di adaptasikan terlebih dahulu selama 1 minggu kemudian dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 10 mencit. Kelima kelompok terbagi dengan perlakuan kontrol negatif dengan pemberian CMC 1%, kelompok kontrol positif dengan pemberian echinacea, kelompok uji dengan pemberian ekstrak daun sukun dengan dosis : dosis I 750mg/KgBB, dosis II 1200mg/KgBB, dosis III 1650mg/KgBB.

10. Pemeriksaan histopatologis hati

Pembuatan preparat histopatologi hati dilakukan pada hari ke 35, pengambilan hepar bagian dextra ditujukan untuk homogenitas sampel. Pengamatan preparat jaringan hepar dengan perbesaran 100 kali di daerah sekitar vena sentralis dan perifer lobulus hepar. Dihitung jumlah total inti sel hati yang tampak lalu dihitung inti sel hati yang mengalami piknosis.

11. Analisis statistik

Analisis statistik yang digunakan dalam pengolahan data yaitu untuk kadar GPT menggunakan analisis statistik ANOVA dua jalan sedangkan untuk persentase nekrosis menggunakan ANOVA satu jalan dilanjutkan uji SNK

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1) Determinasi Tanaman

Tahap pertama dari penelitian ini adalah menetapkan kebenaran tanaman sukun berkaitan dengan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman sukun tersebut. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Morfologi dan Taksonomi Tumbuhan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

2) Deskripsi Tanaman

Tanaman sukun merupakan tanaman hutan yang tingginya mencapai 20 m. Kayunya lunak dan kulit kayu berserat kasar. Semua bagian tanaman bergetah encer. Daun sukun tergolong besar, lebar, kaku, dan tebal seperti belulang. Ukurannya 30 - 60 cm x 20- 40 cm. Warna daun di sebelah atas hijau tua mengkilap, di sebelah bawah berwarna hijau pucat dan kasar. Daun ini berbulu halus. Pangkal daun utuh dan kukuh, panjangnya sekitar 3-5 cm. Tepi daun bercangap atau melekok sekitar $\frac{3}{4}$ daun. Buahya berbentuk bulat berkulit tebal dan kasar, dengan warna hijau muda dan kuning dengan berat sekitar 1,5 – 3 kg. Bunga sukun relative besar dan memiliki tandan bunga. Bunga jantan tebal, berbentuk seperti gada dan mirip busa. Bunga jantan tersusu atas bunga - bunga kecil dengan stamen tunggal yang dilengkapi sela beruang dua yang

menjulang keluar. Bunga betina terdiri atas kumpulan bunga yang banyak sekali yang berkumpul pada dasar bunga. Kelopak bunga berbentuk tabung. Di atas kelopak ada kepala putik beruang dua yang menjulang. Bakal buah beruang dua. Buah sukun berbentuk bulat. Ada juga beberapa varietas yang memiliki buah hampir lonjong dan memanjang. Garis tengah buah sekitar 10 -30 cm. Kulit buah berduri, tetapi ada yang tampak halus, warnanya hijau kekuningan. Tanaman sukun (*Artocarpus altilis*) dapat digolongkan menjadi sukun yang berbiji (breadnut) dan yang tanpa biji (breadfruit). Sukun (*Artocarpus altilis*) tergolong tanaman tropik sejati, tumbuh yang paling baik di dataran rendah yang panas.

3) Pengerinan dan Pembuatan Serbuk Daun Sukun

Daun sukun yang digunakan berasal dari dusun klebet, Gondangrejo, Wonorejo, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun yang diambil adalah daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, warna hijau tua. Daun yang dikumpulkan dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan semua kotoran yang melekat baik dari tanaman maupun dari mikroba lainnya.

Pengerinan daun sukun dilakukan dengan cara dioven pada suhu 40°C selama 5 hari sehingga didapat daun sukun kering. Pengerinan bertujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga mencegah terjadinya perubahan kimiawi yang menurunkan mutu. Selain itu juga untuk menghindari pertumbuhan jamur dan bakteri. Bahan yang telah dikeringkan akan memudahkan proses penyerbukan.

Daun yang sudah dikeringkan segera diserbuk dengan cara digiling dengan mesin penyerbuk atau ditumbuk dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Penyerbukan ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel dengan pelarut sehingga pengestrasian dapat berlangsung efektif.

4) Hasil Perhitungan Rendemen Daun Sukun

Hasil perhitungan rendemen daun sukun kering terhadap berat daun sukun basah adalah 7000 gram daun basah didapatkan 2400 gram daun sukun kering, lalu dari 2400 gram didapatkan serbuk seberat 1900 gram. Dengan demikian rendemen serbuk kering terhadap daun basah sebesar 34,28 %. Data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3.

5) Pembuatan Ekstrak Daun Sukun

Ekstrak daun sukun diperoleh dari proses perkolasi serbuk kering daun sukun dengan pelarut alkohol 70% b/v. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan selama 2 hari hingga diperoleh ekstrak kental daun sukun. Hasil perhitungan pembuatan ekstrak kental daun kelor dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pembuatan ekstrak daun sukun

Berat serbuk daun sukun (g)	Ekstrak kental (g)
500	164,375

- a. **Hasil pemeriksaan organoleptis.** Bentuk : kental, warna : hijau kehitaman, bau : khas, rasa : khas.

6) Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Daun Sukun

Hasil identifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak daun sukun berdasarkan reaksi warna ditemukan adanya kandungan senyawa flavonoid, saponin, alkaloid dan tannin. Hasil selengkapnya terdapat dalam tabel 2 dan lampiran 4.

Tabel 2. Hasil Identifikasi kandungan kimia dengan pereaksi warna

No	Senyawa	Hasil Identifikasi	Kesimpulan
1.	Flavonoid	Endapan putih	+
2.	Saponin	kekuningan	+
3.	Alkaloid	Buih	+
4.	Tannin	Merah/jingga Coklat kehijauan	+

7) Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Sukun

Dosis ekstrak daun sukun didasarkan pada penggunaan empiris (dosis yang digunakan dimasyarakat) atau dari penelitian terdahulu yang kemudian dikonversikan ke dalam dosis perkolasi. Untuk dosis I yaitu 750mg/KgBB, dosis II yaitu 1200mg/KgBB, dosis III yaitu 165mg/KgBB

8) Perlakuan hewan uji

Mencit sudah dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Sebelum dilakukan perlakuan terhadap hewan uji terlebih dahulu di adaptasikan selama 7 hari di tempatkan di masing-masing kandang. Selama proses adaptasi makanan dan minuman yang

diberikan tidak dilakukan perlakuan apapun.

10. Hasil pengamatan rata-rata persentase nekrosis sel hati mencit putih jantan

Tabel 4. hasil pengamatan rata-rata persentase nekrosis sel hati mencit putih jantan

Kelompok uji	Rata-rata total inti piknotik	Rata-rata total inti	Rata-rata persentase nekrosis
Kontrol -	24	98,4	24,38%
D2	19,4	121,8	15,92%
D3	16,4	114,4	14,33%
Kontrol positif	24,8	131,4	18,87%
D3	26,6	153,2	17,36%

Sebelum dilakukan uji hipotesis data penelitian perlu diuji apakah data terdistribusi normal dengan Kolmogorov-Smirnof menunjukkan bahwa nilai signifikansi sebesar 0,995 lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi secara normal selanjutnya dilakukan uji ANOVA satu jalan untuk mengetahui apakah ada beda persentase nekrosis antara lima perlakuan. didapatkan hasil bahwa signifikansi sebesar 0,000 lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan

persentase nekrosis yang nyata antara ke 5 perlakuan sehingga perlu dilakukan uji kesamaan varian Levene menunjukkan bahwa signifikansinya sebesar 0,216 lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa varian datanya sama. maka dilanjutkan uji SNK. terlihat bahwa D2 berbeda secara nyata dengan perlakuan lain sehingga dapat disimpulkan D2 yang terbaik dalam menimbulkan respon imun ditandai dengan persentase nekrosis terkecil. nekrosis sel hati dapat dilihat dari adanya tidaknya inti piknotik. inti piknotik adalah inti sel yang mati menyusut, batas tidak teratur dan berwarna gelap

Vaksin yang digunakan dalam penelitian ini adalah vaksin hepatitis B merk Engerix-B karena vaksin ini sudah memenuhi syarat dari WHO untuk vaksin hepatitis rekombinan. Engerix-B diindikasikan untuk imunisasi aktif melawan infeksi HBV yang disebabkan oleh semua sub tipe yang diketahui pada subyek dalam semua jangkauan usia yang beresiko terkena HBV. Diduga bahwa hepatitis D juga akan dicegah dengan imunisasi Engerix seperti hepatitis D

(yang disebabkan oleh agen delta) tidak terjadi sengan tidak adanya inveksi hepatitis B.

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah echinaceae yang sudah dalam bentuk sirup. digunakan echinaceae karena echinaceae sangat baik untuk memperkuat imunitas tubuh, mencegah penyebaran infeksi dan menghambat replikasi virus.

IV. KESIMPULAN

Setelah dilakukan analisis statistik terlihat bahwa ekstrak etanol 70% daun sukun dosis II 1200mg/KgBB yang paling efektif sebagai hepatoprotektor yang ditandai dengan paling sedikit inti piknotiknya.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada DIKTI yang telah mendanai penelitian ini serta pihak-pihak terkait yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu

VI. DAFTAR PUSTAKA

- Afifah E. 2004. Tanaman Obat Untuk Mengatasi Hepatitis. Pt Agromedia
- Akbar N. Hepatitis B. Dixa Medika Jurnal Kedokteran Dan Farmasi. 1992: 83–5.
- Akbar N. 2003. Hepasil Menurunkan Enzim Hati Dan Meningkatkan

Respon Imun Pada Penderita Hepatitis Virus Kronik. Cermin Dunia Kedokteran No. 140: 55-56

Amiruddin R. Peranan dan Pengobatan Interferon pada Hepatitis Virus Kronik. Acta Medica Indonesiana, 1998; 30: 53–65.

Amiruddin R. Strategi Penatalaksanaan Hepatitis Kronik Virus B dan C. Forum Diagnostikum. Prodia Diagnostics Educational Services, 2002; (6): 1–7.

Bauer R, Netsch M, Kreuter Mh. 2001. *Echinacea Purpurea*. Food Processing Japan; 36:58-62

Hano, Y., R. Inami, and T. Nomura, 1994, Constituents of Moraceae Plants. 20. A Novel Flavone, Artonin V, from The Root Bark of *Artocarpus altilis*, *J. Chem. Res., Synop.*, 1994:9, 348-349.

Ioshimoto LM, Rissato ML, Bonilha VSJ, Miyaki C, Raw I, Granovski N, 1999. Safety And Immunogenicity Of Hepatitis B Vaccine Butang In Adults. *Rev Inst. Med Trop. S. Paulo* 41 (3): 191-193

Lotulung P *et al.* 2008. Identification of cytotoxic compound from *Artocarpus communis* leaves against P-388 cells. *Pak J Bio Sci* 1:1-4.

Hano, Y., R. Inami, and T. Nomura, 1994, Constituents of Moraceae Plants. 20. A Novel Flavone, Artonin V, from The Root Bark of *Artocarpus altilis*, *J. Chem. Res., Synop.*, 1994:9, 348 349.

Hardjoeno H, dkk. Tes Serologik Hepatitis. Interpretasi Hasil Tes Laboratorium Diagnostik, Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin, Makassar, 2003; 289–98

- Patil, A. D., A. J. Freyer, L. Killmer, P. Offen, P. B. Taylor, B. J. Votta, and R. K. Johnson, 2002, A New Dimeric Dihydrochalcone and A New Prenylated Flavone from The Bud Covers of *Artocarpus altilis*: Potent Inhibitors of Cathepsin K, *J. Nat. Prod.*, 65:4, 624-627.
- Japaries, W., 1996, Hepatitis, Penerbit Arcan, Jakarta: 23-24
- Linawati Y et al, 2000, Efek Hepatoprotektif rebusan herba putri malu pada tikus terangsang parasetamol, UGM, Yogyakarta
- Lu, F.C., 1995, Toksikologi Dasar : Asas, Organ Sasaran, Dan Penilaian Resiko, Balai Penerbit FKUI, Jakarta : 206
- Middleton *et al.* 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation. heart disease. and cancer. *Pharm Rev* 52:673-751.
- Mustafa AM. 1998. *Budidaya Sukun*. Jakarta: Universitas Terbuka.
- Price & Wilson, 1994, Patofisiologis, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi Keenam. Penerbit ITB. Bandung. 152-154
- Sacher RA, McPherson RA. Uji Fungsi Hati. Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium, Edisi ke-11, Jakarta, Penerbit Buku Kedokteran EGC , 2004; 360-84.
- Siemonsma, J.S. and K. Piluek. 1992. *PROSEA : Plant Resource of South-East Asia 2, Edible Fruits and Nuts*. Editor :
- E.W.M. Verheij dan R.E. Coronel. Bogor : PROSEA Foundation. p 113.
- Singgih B Dan Datau EA. 2006. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 150: 18-21
- Soemohardjo S. 2008. *Hepatitis Virus B*. Edisi 2. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 4-11; 35-36
- Suryaatmadja M. Diagnosis Laboratorium Infeksi Virus Hepatitis B dan C Update. Pendidikan Berkesinambungan Patologi Klinik 2004, Jakarta, Penerbit Departemen Patologi Klinik FKUI, 2004; 49-65.
- Syah YM *et al.* 2006. Dua flavonoid tergrenilasi dari daun sukun (*A.altilis*). *Jurnal Matematika & Sains* 11:100-104
- Syamsuhidayat, S.S and Hutapea, J.R, 1991, Inventaris Tanaman Obat Indonesia, edisi kedua, Departemen Kesehatan RI, Jakarta
- Widowati, I. 2004. *Buah roti, pangan alternatif pendamping beras*. www.Pikiran Rakyat.Com.
- Zhihua Liu, Jinlin Hou. Hepatitis B Virus (HBV) and Hepatitis C Virus (HCV) Dual Infection. *International Journal of Medical Sciences*, 2006; 3(2): 57-62.

