

EFEK PROTEKTIF EKSTRAK ETANOL UMBI BIT (*Beta vulgaris. L*) TERHADAP TIKUS YANG DIINDUKSI DOKSORUBISIN

S.E. Nugraha^{1*}, Yuandani², E.S. Nasution² dan R.A. Syahputra

¹ Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

² Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara, Medan, Indonesia

Corresponding author: sonyekanugraha@usu.ac.id

ABSTRAK: Doksorubisin telah digunakan secara luas untuk mengobati kanker. Senyawa ini menunjukkan kemampuan yang kuat untuk melawan kanker dan telah digunakan sebagai kemoterapi kanker sejak akhir tahun 1960. Doksorubisinsorubisin adalah senyawa golongan antrasiklin bersifat sitotoksik yang merupakan hasil isolasi dari *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Kondisi peningkatan stres oksidatif sangat erat kaitannya dengan terapi doksorubisinsorubisin yang ditandai dengan pembentukan peroksidasi lipid yang memiliki potensi menimbulkan kerusakan sel. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek protektif ekstrak etanol umbi bit (EEUB) pada penggunaan bersamaan doksorubisinsorubisin selama 15 hari dengan mengukur profil lipid (Trigliserida, Kolesterol Total dan LDL), Serum SGOT, Serum SGPT, serta Kreatinin dan Ureum. Tikus putih jantan sebanyak 30 ekor dengan berat badan 180-200 gram dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan. Kelompok I adalah kelompok kontrol Normal, kelompok II adalah kelompok kontrol negatif yang hanya diinjeksikan doksorubisin dengan dosis kumulatif 15 mg/kg BB selama 15 hari. Kelompok III adalah kelompok Kontrol positif yang diberikan vitamin E 100 mg/kgBB, Kelompok IV- VI adalah kelompok uji yang diberikan EEUB pada dosis 100, 200 dan 400 mg berturut selama 15 hari bersamaan dengan injeksi doksorubisin. Kelompok yang diberi perlakuan dengan EEUB pada dosis 100 mg/kgBB dapat memperbaiki profil lipid tikus dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Kelompok yang diberi perlakuan EEUB pada dosis 200 mg/kgBB dapat memperbaiki kadar serum SGOT dan SGPT dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Kelompok yang diberi perlakuan dengan EEUB pada dosis 100 mg/kgBB juga menunjukkan efek perbaikan pada nilai kreatinin dan ureum tikus dibandingkan dengan kontrol negatif ($P < 0,05$). Pada semua parameter penelitian menunjukkan bahwa aktivitas protektif ekstrak etanol umbi bit tergantung pada peningkatan dosis. Penelitian ini membuktikan bahwa senyawa yang terdapat didalam ekstrak etanol umbi bit memiliki aktivitas protektif pada tikus yang diinduksi doksorubisinsorubisin.

Kata Kunci: *Umbi bit (Beta vulgaris. L.)*, Doksorubisinsorubisin, Protektif

ABSTRACT: Doxorubicin has been used extensively to treat cancer. This compound shows a strong ability to cure cancer and has been used as cancer chemotherapy since the late 1960s. Doxorubicin is a cytotoxic anthracycline compound isolated from *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. Oxidative stress condition are closely related to doxorubicin therapy which is characterized by the formation of lipid peroxidation which has the potential to cause cell damage. This study was to determine the protective effect of beetroot ethanol extract on concurrent use of doxorubicin for 15 days by measuring the lipid profile (Triglycerides, Total Cholesterol and LDL), SGOT Serum, SGPT Serum, and Creatinine and Ureum. 30 Male white rat as weighing 180-200 grams were divided into 6 treatment groups. Group I was the Normal control group, Group II was a negative control group that only injected doxorubicin with a cumulative dose of 15 mg / kg BW for 15 days. Group III is the positive control group given vitamin E 100 mg / kgBW, Group IV- VI is the test group given beetroot extract at doses of 100, 200 and 400 mg respectively for 15 days together with doxorubicin injection. The group treated with beetroot extract at a dose of 100 mg / kgBW could improve the lipid profile of mice and was significantly different from the negative control ($p < 0.05$). The group treated with beetroot extract at a dose of 200 mg / kgBW could improve serum of SGOT and SGPT levels compared with negative controls ($p < 0.05$). The group treated with beetroot extract at a dose of 100 mg / kgBW also showed an improved effect on creatinine and urea level of rats compared to negative controls ($P < 0.05$). All parameters showed that the protective

activity of beetroot ethanol extract was dependent on increasing the dose. This research proves that the compound contained in beetroot ethanol extract has protective activity in rats that induced by doxorubicin.

PENDAHULUAN

Doksorubisin merupakan salah satu antikanker dari golongan antrasiklin yang masih sangat luas penggunaannya sebagai kemoterapi pada terapi kanker. Doksorubisin adalah senyawa golongan antrasiklin bersifat sitotoksik yang merupakan hasil isolasi dari *Streptomyces peuceletii* var. *caesius* (Tacar et al. 2013). Kondisi peningkatan stres oksidatif sangat erat kaitannya dengan terapi doksorubisin yang ditandai dengan pembentukan peroksidasi lipid yang memiliki potensi menimbulkan kerusakan sel (Freter et al. 1986). Kejadian toksisitas doksorubisin dapat menyebabkan kerusakan pada organ seperti jantung, ginjal, hati dan otak.

Struktur kimia doksorubisin berpotensi membentuk radikal bebas melalui berbagai mekanisme. Gugus kuinon pada cincin tetrasiklik doksorubisin dapat membebaskan sejumlah radikal superoksida (Minniti et al. 2000). Metabolisme doksorubisin juga menyebabkan terbentuknya metabolit aglikon yang bersifat reaktif dan metabolit alkohol (doksorubisin-*o*-rubisinol) yang dapat mengganggu keseimbangan konsentrasi Fe intraselular (Maessen et al. 1987). Hal inilah yang menyebabkan pemberian doksorubisin dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan mengganggu keseimbangan pertahanan antioksidan sehingga mencetuskan kerusakan sel.

ROS secara normal dihasilkan oleh tubuh dalam proses metabolisme, untuk mengatasi ROS tersebut tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap ROS dengan menghasilkan enzim yang bersifat antioksidan seperti enzim superoksida dismutase, katalase, glutathion dan lain-lain sehingga tidak mencetuskan kerusakan oksidatif (Scandalios. 2002). Produksi radikal bebas yang berlebihan dan berkurangnya sistem pertahanan antioksidan akan menyebabkan kerusakan sel.

Telah banyak penelitian yang membuktikan toksisitas doksorubisin terhadap organ terutama jantung dan ginjal dan hati (Rashid et al. 2013). Hati sebagai organ yang berperan dalam metabolisme adalah salah satu organ yang berpotensi mengalami kerusakan oleh karena pemberian doksorubisin. Selain itu ginjal juga akan mengalami hal yang sama akibat kondisi oksidatif stress yang tinggi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kerusakan hati dan ginjal yang diinduksi doksorubisin dapat disebabkan oleh proses inflamasi, radikal bebas, stres oksidatif dan peroksidasi lipid (El-Shitany et al. 2008)

Untuk mengatasi toksisitas doksorubisin terhadap beberapa organ tubuh maka perlu adanya suplementasi antioksidan untuk menangkal radikal bebas dari doksorubisin. Salah satu tumbuhan yang memiliki antioksidan yang tinggi adalah umbi bit (*Beta vulgaris L.*). Umbi bit mengandung senyawa metabolit sekunder berupa tanin saponin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid serta kandungan betasianin yang memiliki efek antioksidan (Nahla et al. 2018) Berdasarkan uraian di atas maka penelitian ini ditujukan untuk mengetahui efek protektif ekstrak etanol umbi bit (*Beta vulgaris L.*) pada tikus yang diinduksi doksorubisin.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang meliputi pengukuran kadar biomarker profil lipid (Trigliserida, Kolesterol Total, HDL dan LDL), Serum SGOT, Serum SGPT, serta Kreatinin dan Ureum terhadap tikus yang diinduksi doksorubisin.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, hot plate (*fisons*), desikator, kandang tikus, kertas label, kertas pH, kertas saring, kertas saring whatmann no.42, neraca analitik (*boeco*), mikroskop cahaya (*boecp*), panci infus, sonde oral, spatula, seperangkat alat bedah, termometer, dan timbangan tikus. Bahan-bahan yang digunakan yaitu umbi bit, aqua demineralisata, doksorubisin, etanol, heparin dan vitamin E.

Tempat

Uji aktivitas berupa induksi doksorubisin dan pemberian ekstrak umbi bit dilakukan di laboratorium farmakologi Universitas Sumatera Utara. Sampel uji lalu diukur di Laboratorium Kesehatan Daerah Sumatera Utara.

Pengujian Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia serbuk simplisia umbi bit meliputi pemeriksaan senyawa steroid/triterpenoid, alkaloid, glikosida, tanin, flavonoid dan saponin (Harboune, 1987).

Pembuatan Ekstrak Etanol

Pembuatan ekstrak etanol dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 80% selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh maserat pekat (Ditjen POM. 1995).

Pengujian Aktivitas Protektif Umbi Bit

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan tikus wistar jantan. uji aktivitas perlindungan pada percobaan ini menggunakan 30 tikus sehat dengan berat badan sekitar 170 g ± 10%, sebanyak 30 tikus dibagi dalam 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 5 tikus yaitu:

- Kelompok normal : tikus tanpa perlakuan
- Kontrol negatif : tikus diinduksi dosis akumulatif doksorubisin 15 mg + suspensi Na-CMC
- Kontrol positif : tikus diinduksi dosis akumulatif doksorubisin 15 mg + suspensi Vitamin E 100 mg /kg bb
- Dosis 100 : tikus diinduksi dosis akumulatif doksorubisin 15 mg + ekstrak dosis 100 mg/kg bb.
- Dosis 200 : tikus diinduksi dosis akumulatif doksorubisin 15 mg + ekstrak dosis 200 mg/kg bb
- Dosis 400 : tikus diinduksi dosis akumulatif doksorubisin 15 mg + ekstrak dosis 400 mg/kg bb

Tikus diinduksi menggunakan doksorubisin dengan dosis akumulatif 15 mg/kgBB selama 15 hari dengan pemberian doksorubisin 5 kali dalam 1 minggu dengan dosis pemberian 1 mg/ml secara intraperitoneal, dan ekstrak di berikan bersamaan selama rentang penebrian doskorubisin 15 hari. Hari ke 16 hewan dianastesi dengan kloroform, sampel darah dikumpulkan yang selanjutnya digunakan untuk estimasi profil lipid (LDL, total kolesterol, TGD), SGOT, SGPT, Kreatinin dan Ureum.

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan program spss versi 17.0. data dianalisis dengan menggunakan metode *shapiro-wilk* untuk menentukan

normalitas dan juga dilakukan uji homogenitas. kemudian dilanjutkan menggunakan metode *one way anova* untuk menentukan perbedaan rata-rata di antara kelompok. jika terdapat perbedaan, dilanjutkan dengan menggunakan uji *post hoc tukey hsd* untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia terhadap simplisia dan ekstrak etanol umbi bit (EEUB) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil skrining fitokimia serbuk simplisia dan ekstrak umbi bit

No.	Pemeriksaan	Simplisia	Ekstrak
1.	Flavonoid	+	+
2.	Alkaloid	+	+
3.	Saponin	+	+
4.	Tanin	+	+
5.	Glikosida	+	+
6.	Steroid/triterpenoid	+	+

Keterangan :

(+) : mengandung golongan senyawa

(-) : tidak mengandung golongan senyawa

Pada Tabel 1 menyatakan bahwa serbuk simplisia dan ekstrak etanol umbi bit mengandung golongan senyawa kimia yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, glikosida, dan steroid/triterpenoid.

Efek Protektif Ekstrak Etanol Umbi Bit

Hasil uji aktivitas protektif yang dilakukan meliputi data pengukuran kadar biomarker profil lipid (trigliserida, kolesterol total, hdl dan ldl), serum sgot, serum sgpt, serta kreatinin dan ureum dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 Data Aktivitas Protektif Ekstrak Etanol Umbi Bit yang Diinduksi Doksorubisin

No.	Kelompok	Mean ± SD							
		Total Kolesterol (mg/dl)	LDL (mg/dl)	TGD (mg/dl)	HDL (mg/dl)	SGOT (U/L)	SGPT (U/L)	Kreatinin (mg/dl)	Ureum (mg/dl)
1.	Kontrol Normal	78.4 ± 3.64	21 ± 2.64	123.2 ± 8.22	39 ± 2.64	174,58 ± 9,52	61,74 ± 7,37	0.26 ± 0.01	41,4 ± 1,49
2.	Kontrol negatif	100.6 ± 6.8	31.8 ± 4.20	213 ± 42	51,8 ± 2,16	441,62 ± 30,11	151,62 ± 12,14	0.46 ± 0.01	55,4 ± 1,74
3.	Kontrol Positif	69 ± 4.41	18,2 ± 2.77	108.8 ± 6.83	54,6 ± 5,12	259,92 ± 17,25	84,08 ± 4,66	0.24 ± 0.2	43,4 ± 1,74

4.	EEUB Dosis 100 mg/kgBB	74.2 ± 3.96	10,6 ± 1.94	145.2 ± 13.66	55 ± 6,08	383,8 ± 17,38	117,36 ± 7,16	0.43 ± 0.03	48 ± 1,41
5.	EEUB Dosis 200 mg/kgBB	62.6 ± 3.36	9,4 ± 1.94	100.2 ± 6.3	53,2 ± 5,11	308,3 ± 24,02	89,22 ± 6,12	0.34 ± 0.01	45,2 ± 0,97
6.	EEUB Dosis 400 mg/kgBB	46.6 ± 3.91	10 ± 1.21	89.8 ± 6.37	52,4 ± 6,26	245,9 ± 8,80	79,96 ± 7,41	0.25 ± 0.01	40,6 ± 2,15

Peningkatan oksidatif stress oleh doksorubisin menyebabkan kerusakan mitokondria, meningkatkan oksidasi lemak, dan menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel dapat berimbas pada kerusakan jaringan hati, ginjal dan peningkatan profil lipid yang ditandai pada peningkatan nilai profil lipid, peningkatan biomarker kesehatan hati SGOT dan SGPT serta peningkatan nilai kreatinin dan ureum sebagai penanda kesehatan organ ginjal. Hal ini menandakan bahwa efek induksi doksorubisin berpengaruh pada kondisi kesehatan organ-organ pada tubuh.

Tabel 2 menunjukkan bahwa kelompok tikus yang diberi perlakuan dengan EEUB pada dosis 100 mg/kgBB dapat memperbaiki profil lipid tikus dan berbeda signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Kelompok yang diberi perlakuan EEUB pada dosis 200 mg/kgBB dapat memperbaiki kadar serum SGOT dan SGPT dibandingkan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$). Kelompok yang diberi perlakuan dengan EEUB pada dosis 100 mg/kgBB juga menunjukkan efek perbaikan pada nilai kreatinin dan ureum tikus dibandingkan dengan kontrol negatif ($P < 0,05$). Pada semua parameter penelitian menunjukkan bahwa aktivitas protektif ekstrak etanol umbi bit yang bergantung pada peningkatan dosis.

Aktivitas pelindungan ini didasari pada kandungan senyawa spesifik yang ada di umbi bit berupa betanin dan juga kandungan flavonoid dan tanin yang merupakan golongan polifenol yang dapat memperbaiki profil lipid darah, biomarker kesehatan hati dan ginjal. Hal ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Al-Dosari et al, 2011 dimana ekstrak bit dapat memperbaiki profil lipid darah tikus yang diinduksi diet tinggi lemak. Umbi bit telah terbukti dapat melindungi ginjal tikus yang diinduksi gentamisin serta dapat melindungi organ hati tikus yang diinduksi CCl₄ (El Gamal et al. 2014), (Agarwal et al. 2006)

Pemberian ekstrak umbi bit yang kaya akan antioksidan dapat memberikan perlindungan terhadap rekasi oksidatif stress yang disebabkan oleh doksorubisin. Pada pemberian ekstrak etanol umbi bit dalam beberapa variasi dosis yaitu 100, 200 dan 400 mg/kgBB memiliki efek perlindungan pada tikus yang diinduksi doksorubisin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol umbi bit memiliki efek perlindungan terhadap nilai profil lipid dan biomarker kesehatan hati erta ginjal tikus yang diinduksi doksorubisin.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sumatera Utara yang telah memberikan dukungan dana penelitian. Penelitian ini didanai oleh Universitas Sumatera Utara sesuai dengan kontrak implementasi Penelitian USU TALENTA untuk tahun pendanaan 2019 Nomor: 4167 / UN.5.1.R / PPM / 2019 tanggal 1 April 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Agarwal, M., Srivastava, V. K., Saxena, K. K., & Kumar, A. (2006). Hepatoprotective activity of Beta vulgaris against CCl₄-induced hepatic injury in rats. *Fitoterapia*, 77(2), 91-93.
- Al-Dosari, M., Alqasoumi, S. A. L. E. H., Ahmed, M., Al-Yahya, M., Ansari, M. N., & Rafatullah, S. (2011). Effect of Beta vulgaris L. on cholesterol rich diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Farmacologia*, 59, 669-678.
- Ditjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta.
- El Gamal, A. A., AlSaid, M. S., Raish, M., Al-Sohaibani, M., Al-Massarani, S. M., Ahmad, A., ... & Rafatullah, S. (2014). Beetroot (Beta vulgaris L.) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. *Mediators of inflammation*, 2014.
- El-Shitany, N. A., El-Haggar, S., & El-Desoky, K. (2008). Silymarin prevents adriamycin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(7), 2422-2428.
- Freter, C. E., Lee, T. C., Billingham, M. E., Chak, L., & Bristow, M. R. (1986). Doxorubicin cardiac toxicity manifesting seven years after treatment. Case report and review. *The American journal of medicine*, 80(3), 483-485.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia*. Edisi ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung:

- Institut Teknologi Bandung. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Maessen, P. A., Mross, K. B., Pinedo, H. M., & Van der Vijgh, W. J. F. (1987). Metabolism of epidoxorubicin in animals: absence of glucuronidation. *Cancer chemotherapy and pharmacology*, 20(1), 85-87.
- Minotti, G., Licata, S., Saponiero, A., Menna, P., Calafiore, A. M., Di Giammarco, G., ... & Maggi, C. A. (2000). Anthracycline metabolism and toxicity in human myocardium: comparisons between doxorubicin, epirubicin, and a novel disaccharide analogue with a reduced level of formation and [4Fe-4S] reactivity of its secondary alcohol metabolite. *Chemical research in toxicology*, 13(12), 1336-1341.
- Nahla, T. K., Wisam, S. U., & Tariq, N. M. (2018). Antioxidant Activities of Beetroot (*Beta vulgaris L.*) Extracts. *Pakistan Journal of Nutrition*, 17(10), 500-505.
- Rashid, S., Ali, N., Nafees, S., Ahmad, S. T., Arjumand, W., Hasan, S. K., & Sultana, S. (2013). Alleviation of doxorubicin-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity by chrysin in Wistar rats. *Toxicology mechanisms and methods*, 23(5), 337-345.
- Scandalios, J. G. (2002). The rise of ROS. *Trends in biochemical sciences*, 27(9), 483-486.
- Tacar, O., Sriamornsak, P., & Dass, C. R. (2013). Doxorubicin: an update on anticancer molecular action, toxicity and novel drug delivery systems. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 65(2), 157-170.