

Research Article

The Preventive Effect of Fig Leaves's (*Ficus carica* L.) towards Colon Histopathological Feature and IL-6 Serum Level on Ulcerative Colitis Induced Mice

Hartini Tiono

*Histology Department
Faculty of Medicine Maranatha Christian University
Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia
Email: hartini_tiono@yahoo.com*

Abstract

Ulcerative colitis is a chronic inflammatory disease mainly affects sigmoid colon and rectum. The inflammation process will activate NF- κ B and leads to proinflammatory cytokine release such as Interleukin-6 (IL-6). Fig leaves contain a high level of flavonoid which can prevent NF- κ B activation, and further inhibits IL-6 secretion. This research aims to see the preventive effect of methanolic extract of fig leaves towards colon histopathological feature and IL-6 serum level on ulcerative colitis induced mice. Balb/C male mice were randomly assigned into 5 groups (n=5). The treatment groups were dextran sulphate sodium (DSS) control group (group I), methanolic extract of Fig leaves dose 28 mg/ day control group (group II), and methanolic extract of Fig leaves dose 7 mg/ day (group III), 14 mg/ day (group IV), and 28 mg/ day (group V) for 14 days, which at the 8th till 14th day were given DSS to induce colitis. The results showed that both of colon mucosal damage and IL-6 serum level of group I were significantly different from other groups (p=0,029). In conclusion, the methanolic extract of Fig leaves can improve colon mucous damage and decrease IL-6 serum level on ulcerative colitis-induced mice.

Keywords: ulcerative colitis, fig leaves, colon mucousal damage, interleukin-6

Research Article

Efek Preventif Daun Ara (*Ficus carica L.*) pada Mencit Model Kolitis Ulserativa Ditinjau dari Gambaran Histopatologik Kolon dan Kadar IL-6

Hartini Tiono

Bagian Histologi
Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha
Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia
Email: hartini_tiono@yahoo.com

Abstrak

Kolitis ulserativa (KU) merupakan penyakit inflamasi kronis yang terutama mengenai bagian kolon sigmoid dan rektum. Kerusakan mukosa kolon akibat peradangan akan mengaktivasi NF- κ B sehingga merangsang pengeluaran *Interleukin 6* (IL-6). Daun Ara memiliki kandungan tinggi *flavonoid* yang dapat mencegah aktivasi NF- κ B, sehingga menekan pengeluaran IL-6. Tujuan penelitian menguji efek preventif ekstrak metanol daun Ara terhadap gambaran histopatologik kolon dan kadar IL-6 pada mencit model KU. Mencit jantan galur *Balb/C* dibagi dalam 5 kelompok secara acak (n=5). Metode penelitian dilakukan dengan cara membandingkan kelompok kontrol *dextran sulphate sodium* (DSS) (I), kontrol Ara dosis 28 mg/hari (II), dan kelompok perlakuan ekstrak metanol daun Ara dosis 7 mg/hari (III), 14 mg/hari (IV), dan 28 mg/hari (V) selama 14 hari, kemudian pada hari ke-8 sampai 14 diinduksi dengan DSS 2,5%. Hasil penelitian menunjukkan baik kerusakan mukosa kolon dan kadar serum IL-6 pada kelompok I secara bermakna berbeda dibandingkan kelompok lainnya (p=0,029). Sebagai simpulan, ekstrak metanol daun Ara dapat mengurangi kerusakan mukosa kolon dan kenaikan kadar IL-6 pada mencit model KU.

Kata kunci: kolitis ulserativa, daun Ara, kerusakan mukosa kolon, *interleukin 6*

Research Article

Pendahuluan

Kolitis ulserativa (KU) merupakan salah satu penyakit *inflammatory bowel disease* (IBD) yang mengenai usus besar. Peradangan paling berat umumnya terjadi pada bagian *sigmoid* dan rektum, sedangkan ke arah proksimal semakin berkurang. Pada bagian mukosa usus dapat terjadi ulkus, sehingga sering terjadi diare berdarah dan berlendir.¹ KU berlangsung lama disertai masa remisi dan eksaserbasi yang berganti-ganti. Tanda dan gejala yang penting dikenali pada KU adalah penurunan berat badan, diare, dan perdarahan rektum.^{2,3} Insidensi KU di USA sekitar 11 orang dari 100.000 orang, sedangkan di Asia dan Amerika Selatan hanya 1 dari 200.000 orang. Angka kematian IBD tertinggi terjadi pada tahun-tahun pertama penyakit dan dalam jangka panjang IBD memiliki risiko menjadi kanker kolon.³ Usia penderita KU tertinggi pada usia produktif yaitu antara 15–30 tahun, kemudian pada usia antara 55–65 tahun.^{3,4}

Peradangan yang terus berlangsung pada mukosa usus tersebut dapat memicu timbulnya banyak radikal bebas seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen intermediates* (RNI), demikian juga sebaliknya ROS dan RNI yang terbentuk dapat memicu timbulnya peradangan. Sel-sel yang mengalami peradangan akan menghasilkan sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α), *interleukin-6* (IL-6), *interleukin-8* (IL-8) melalui aktivasi *nuclear factor- κ B* (NF- κ B), sehingga meningkatkan ROS dan RNI dalam sel. Sel-sel yang sedang mengalami peradangan aktif merupakan sumber ROS dan RNI yang memiliki kemampuan menginduksi kerusakan *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan ketidakstabilan genomik.⁵ Pada peradangan yang kronis kejadian ini terus berlangsung, sehingga akan berdampak pada kerusakan DNA yang dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker. Risiko kanker kolorektal berhubungan dengan luas dan lamanya penyakit, yang mana KU yang luas memicu risiko kanker kolon 19 kali lipat, dan sekitar 5% pasien KU berkembang menjadi tumor.⁶

Pada penderita KU dan penyakit Crohn (PC) yang keduanya tergolong penyakit *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), selama fase akut terjadi peningkatan konsentrasi serum IL-6 dan *C-reactive protein* (CRP), namun akan kembali normal bila pasien mengalami remisi. Saat ini telah diketahui bahwa beberapa sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, dan TNF- α berperan penting dalam manifestasi klinis dan imunopatologis penyakit IBD.⁷ Pada penderita KU, sel T_H2 akan mengaktifkan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10 yang sangat berpengaruh pada daerah mukosa usus. IL-6 akan menghambat apoptosis atau kematian sel yang alamiah, sehingga proliferasi sel lebih cepat dari kematian sel menyebabkan respons imun yang sangat kuat.¹ Modulasi dari ekspresi IL-6 ternyata memiliki efek pada pertumbuhan tumor pada

Research Article

penelitian model *colitis-associated cancer* (CAC), sehingga diduga sitokin IL-6 ini berfungsi sebagai suatu *trophic factor* untuk keganasan pada epitel.⁸

Telah terbukti adanya hubungan antara penyakit kronis dan stres oksidatif, dimana stres oksidatif merupakan faktor risiko untuk penyakit kronis. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Makanan kaya antioksidan dapat menurunkan stres oksidatif, sedangkan makanan kaya lemak akan menginduksi stres oksidatif. Menurut Urquiaga dkk, antioksidan polifenol memberikan hasil yang lebih memuaskan dibandingkan vitamin C, E, dan karotenoid.⁹

Saat ini target terapi KU adalah mengatasi peradangan sehingga mencegah timbulnya kanker.⁶ Timbulnya peradangan yang terus menerus tidak terlepas dari peranan radikal bebas yang terus dibentuk, sehingga pemberian antioksidan bermanfaat dalam terapi KU.¹⁰

Obat herbal memiliki komponen-komponen aktif yang secara biologikal banyak yang belum diketahui, namun obat herbal sudah digunakan secara luas karena efektivitas, efek samping minimal, dan harganya relatif lebih murah.¹¹

National Cancer Institute dan *National Research Council* di Amerika merekomendasikan makan buah-buahan dan sayuran sekurang-kurangnya 5 kali dalam sehari; karena buah dan sayur merupakan sumber vitamin dan mineral, tinggi serat, kaya antioksidan, namun rendah lemak.¹²

Ara (*Ficus carica* Linn) tumbuh di daerah tropis maupun subtropis. Secara umum dikenal sebagai *fig tree*. Tanaman ini buah maupun daunnya kaya antioksidan polifenol seperti *flavonoid* untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas; selain itu merupakan sumber mineral, tinggi serat, rendah natrium, dan bebas lemak atau kolesterol. Dalam 100 gram, buah Ara mengandung total polifenol 1.090-1.110 mg, sedangkan dalam 40 gram Ara terdapat rata-rata 444 mg fenol yang melebihi rekomendasi konsumsi polifenol dalam sayuran, yaitu sebesar 218 mg/hari.¹²

Berbagai bagian dari tanaman Ara sangat bermanfaat untuk pengobatan. Ara bisa digunakan sebagai obat untuk mengatasi gangguan pencernaan, gangguan pernafasan, gangguan hati, gangguan limpa, penyakit pirai, antiperadangan, antipiretik, antidiabetes, menurunkan tekanan darah, menurunkan kolesterol, bahkan sebagai antikanker.^{11,13,14}

Pada pengujian kimiawi tanaman ara menunjukkan adanya polifenol terutama *flavonoid*, selain itu ditemukan juga *phytosterol*, asam organik (*oxalic, citric, malic, quinic, shikimic, dan fumaric acids*), *anthocyanin*, triterpenoid, *coumarin*, hidrokarbon, *aliphatic alcohol*, asam fenolik seperti *3-O- and 5-O-caffeoylquinic acids, ferulic acid, quercetin-3-O-glucoside, quercetin-3-O-rutinoside, psoralen, bergapten*. Tanaman ini mempunyai efek

Research Article

antikanker karena mengandung 6-(2-methoxy-Z-vinyl)-7-methyl-pyranocoumarin dan 9,19-cycloarlane triterpenoid, sedangkan efek antiproliferatif karena mengandung 6-O-acyl- β -D-glucosyl- β -sitosterol, calotropenyl acetate, dan lupeol acetate. Daun Ara mengandung coumarin, triterpenoids, bauerenol, lupeol acetate, methyl maslinate, dan oleanolic acid.^{11,12,13}

Pada penelitian Hashemi dan Abediankenari, ditemukan efek anti kanker getah Ara dengan berbagai dosis 2,5 mg/ml; 5 mg/ml; dan 10 mg/ml pada sel kanker esofagus secara *in vitro* setelah 72 jam dengan uji MTT, diperoleh hasil terbaik pada dosis 10 mg/ml.¹⁵ Pada penelitian Ali dkk, tikus *albino* galur *Wistar* yang sudah diinduksi peradangan dengan *carrageenan* diberikan ekstrak hidroalkohol daun Ara sebagai anti peradangan. Semua tikus diberikan 0,1 ml dari 1% w/v *carrageenan* [0,5% *carboxyl methyl cellulose* (CMC)] secara subkutan. Kelompok tikus yang diberikan ekstrak hidroalkohol daun Ara sebanyak 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB didapatkan persentase inhibisi adalah 48,88% dan 56,66% sebanding dengan kelompok tikus yang diberikan *indometacin* (obat anti peradangan) dengan dosis 10 mg/kgBB. Diduga efek anti peradangan daun Ara karena adanya *flavonoid*.^{12,16}

Pemberian *dextran sulphate sodium* (DSS) 2,5%-5% dalam air minum mencit galur *Balb/C* ternyata dapat menginduksi KU secara akut maupun kronis.^{10,17,18} Setelah pemberian DSS selama 7 hari pada mencit galur *Swiss-Webster* terjadi perubahan histopatologik pada kolon mencit yang menunjukkan kelainan mirip KU. Pada lesi awal terjadi kerusakan kripta yaitu kripta menjadi irregular hingga menghilang, selanjutnya diikuti dengan peradangan akut dan kronis pada lapisan mukosa dan submukosa kolon dan sekum. Gambaran histopatologik seperti ini ditemukan pada mencit galur *Balb/C* yang diinduksi KU oleh DSS, disertai peningkatan sitokin makrofag pada mukosa seperti TNF- α dan IL-6. Pada mencit galur *Balb/C* kelainan terutama di daerah *distal colon*. Perbedaan galur tampaknya dapat mempengaruhi fase induksi peradangan kolon dari DSS.¹⁷

Tujuan penelitian adalah mengkaji efek pemberian ekstrak metanol daun Ara sebelum induksi dengan DSS 2,5% dalam mengurangi kerusakan mukosa kolon dibandingkan kontrol DSS serta mengkaji efeknya dalam menekan peningkatan kadar IL-6 pada serum darah mencit model kolitis ulserativa.

Metode

Desain penelitian adalah laboratorium eksperimental dengan rancangan acak lengkap (RAL), bersifat komparatif. Pada penelitian ini dilakukan uji efek preventif ekstrak metanol daun ara yang diberikan secara *per oral* pada mencit jantan galur *Balb/C* yang diinduksi KU dengan DSS 2,5% yang diberikan dalam air minumnya, kemudian dilihat efeknya terhadap

Research Article

gambaran histopatologik kolon berdasarkan skoring kerusakan mukosa kolon dan kadar IL-6 pada serum darah mencit secara kuantitatif.

Penelitian diawali dengan mengelompokkan 25 ekor mencit menjadi 5 kelompok, masing-masing 5 ekor mencit, kelompok K-DSS: mencit diberikan *aquadest* secara *per oral* dengan menggunakan sonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke 8 diberikan DSS 2,5% dalam air minumnya selama 7 hari; kelompok K-ARA: mencit mendapatkan ekstrak metanol daun Ara (EMDA) sebanyak 28 mg/ hari (0,4 ml) *per oral* dengan menggunakan sonde selama 14 hari, yaitu hari ke 1 -14; kelompok ARA-1: mencit diberikan EMDA sebanyak 7 mg/ hari (0,4 ml) *per oral* selama 14 hari, hari ke 8 diberikan DSS 2,5% selama 7 hari; kelompok ARA-2: mencit diberikan EMDA sebanyak 14 mg/ hari (0,4 ml) *per oral* selama 14 hari, hari ke 8 diberikan DSS 2,5% selama 7 hari; kelompok ARA-3: mencit diberikan EMDA sebanyak 28 mg/ hari (0,4 ml) *per oral* selama 14 hari, hari ke 8 diberikan DSS 2,5% selama 7 hari. Sebelum dan selama perlakuan, berat badan mencit ditimbang setiap hari. Pada hari ke 14 diambil darah *retroorbital* 300 μ l untuk pengujian kadar IL-6, kemudian mencit dipuasakan selama 12 jam. Setelah puasa seluruh mencit dibunuh dengan cara dislokasi servikal, setelah sebelumnya dianestesi menggunakan ketamin dosis 0,002 ml/gBB. Seluruh bagian kolon mencit diambil, dibilas dengan larutan PBS, kemudian dimasukkan dalam larutan formalin. Kolon bagian *sigmoid* diambil untuk pembuatan parafin blok, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat HE untuk melihat gambaran histopatologiknya.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakognosia, Fakultas Farmasi ITB Bandung dan Laboratorium PPIK, FK-UKM, Januari 2010 hingga Februari 2011.

Data diperoleh dari gambaran histopatologik kolon yang dinilai berdasarkan skor yang sudah ditentukan,¹⁹ dianalisis secara statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis, dilanjutkan dengan uji lanjut Mann-Whitney. Data dari perhitungan kadar IL-6 secara kuantitatif dianalisis menggunakan uji *ANOVA One-Way* atau uji analisis varian (ANAVA), dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* Duncan dengan $\alpha = 0,05$. Kemaknaan ditentukan berdasarkan nilai $p < 0,05$.

Skor dari gambaran histopatologik dinilai berdasarkan gambaran jaringan kolon bagian sigmoid hewan coba yang telah diwarnai dengan pewarnaan HE. Penilaian dilakukan dengan melihat adanya kerusakan mukosa kolon berdasarkan gambaran dan hilangnya kript, hilangnya sel goblet, dan ada atau tidak ulserasi. Setiap kolon sigmoid diambil 5 potongan. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 100X.

Research Article

Kriteria penilaian skor mukosa kolon menurut Kim dkk,¹⁹ yaitu :

1. Normal = 0
2. Hiperproliferasi, kripta ireguler, hilangnya sel goblet = 1
3. Hilangnya kripta ringan-sedang (10-50%) = 2
4. Hilangnya kripta berat (50-90%) = 3
5. Hilangnya kripta keseluruhan, epitel permukaan intak = 4
6. Adanya ulserasi kecil-sedang (lebar < 10 kripta) = 5
7. Adanya ulserasi luas (lebar \geq 10 kripta) = 6

Hasil

Tabel 1 Hasil Penilaian Skor dari Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon menurut Kim dkk.¹⁹

Kelompok	Mencit 1	Mencit 2	Mencit 3	Mencit 4	Mencit 5	Rerata
K-DSS	2,60	3,20	3,80	3,20	3,20	3,20
K-ARA	0,00	0,40	0,00	0,40	0,20	0,20
ARA-1	1,00	1,40	0,60	1,40	1,20	1,12
ARA-2	0,80	0,60	0,60	0,20	0,60	0,56
ARA-3	0,20	0,20	0,60	0,20	0,40	0,32

Keterangan:

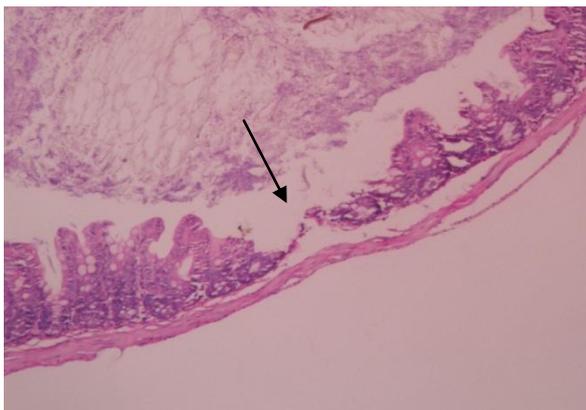
- K-DSS :Kelompok perlakuan dengan pemberian DSS 2,5% selama 7 hari dalam air minum yaitu hari ke 8 – 14, sebelumnya mencit hanya diberikan minum air putih per sonde dan makanan berupa pelet saja.
- K-ARA :Kelompok perlakuan diberikan ekstrak metanol daun Ara 28 mg/hari selama 14 hari
- ARA – 1 :Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak metanol daun Ara 7 mg/ hari selama 14 hari, kemudian pada hari ke 8-14 diberikan DSS 2,5% dalam air minumannya.
- ARA – 2 :Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak metanol daun Ara 14 mg/ hari selama 14 hari, kemudian pada hari ke 8-14 diberikan DSS 2,5% dalam air minumannya
- ARA – 3 :Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak metanol daun Ara 28 mg/ hari selama 14 hari, kemudian pada hari ke 8-14 diberikan DSS 2,5% dalam air minumannya

Tabel 1 menunjukkan bahwa kelompok K-ARA (skor 0,20) mengalami kerusakan mukosa kolonnya paling ringan, sedangkan kelompok K-DSS yang paling berat (skor 3,20).

Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon

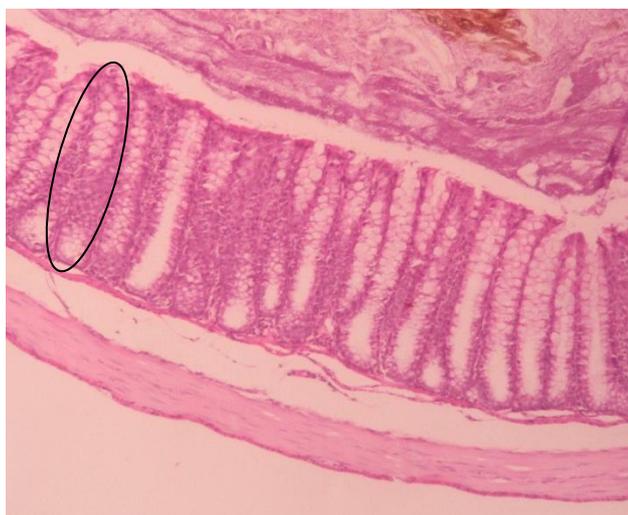
Gambaran histopatologik dibuat dengan pewarnaan H.E. Hasil diamati menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 100x. Di bawah ini tampak gambaran histopatologik dari setiap kelompok perlakuan.

Research Article



Gambar 1 Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon Sigmoid pada kelompok K-DSS (100x)

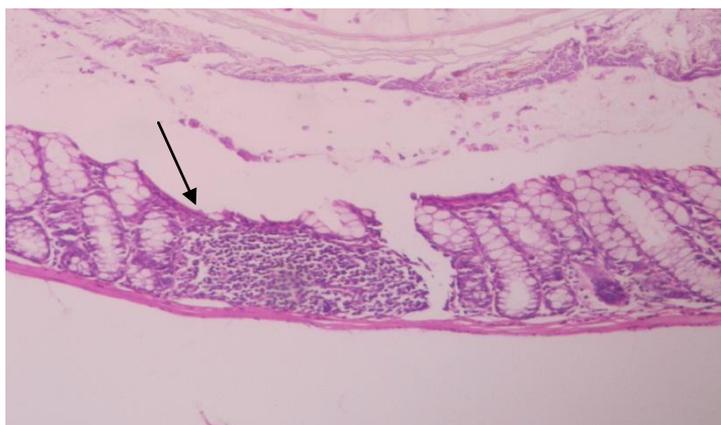
Pada Gambar 1 terlihat kelompok K-DSS mengalami kerusakan mukosa yang berat (tanda panah) dengan adanya ulserasi yang ditandai oleh epitel tidak intak, kehilangan kripta dan sel goblet, hasil penilaian skor menurut Kim termasuk kategori 5.¹⁹ Penilaian skor ditentukan berdasarkan kerusakan setiap bagian mukosa kolon mencit yang paling buruk.



Gambar 2 Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon Sigmoid pada Kelompok K-ARA

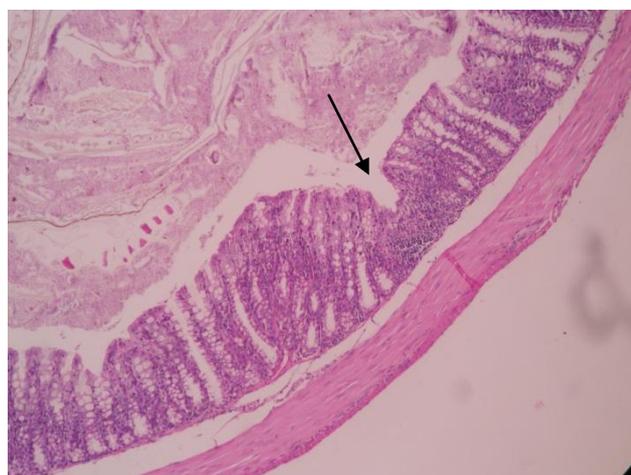
Pada Gambar 2 ditunjukkan gambaran mukosa yang normal dengan kripta panjang, lurus, dan dalam. Terlihat kripta dipenuhi oleh sel goblet.

Research Article



Gambar 3 Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon Sigmoid Pada Kelompok Ara- 1

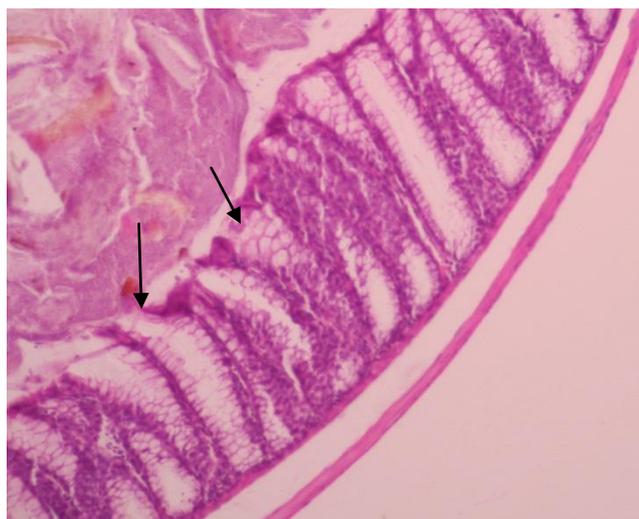
Pada Gambar 3 ditunjukkan gambaran kerusakan mukosa, tampak beberapa kripta hilang digantikan oleh serbukun sel radang, namun lebarnya tidak melebihi 10 kripta, epitel masih intak, sehingga gambaran ini masuk dalam skor 2 menurut Kim dkk.¹⁹



Gambar 4 Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon Sigmoid pada Kelompok Ara-2

Pada Gambar 4 terlihat gambaran kerusakan mukosa, tampak beberapa kripta hilang digantikan oleh serbukun sel radang, namun lebarnya tidak melebihi 10 kripta, epitel masih intak, sehingga hasil penilaian skor termasuk kategori 2 menurut Kim dkk¹⁹. Gambaran histopatologik kelompok Ara dosis 14 mg/ hari lebih baik daripada dosis 7 mg/ hari.

Research Article



Gambar 5 Gambaran Histopatologik Mukosa Kolon Sigmoid pada Kelompok Ara-3

Pada Gambar 5 ditunjukkan gambaran kerusakan mukosa yang paling ringan dibandingkan kelompok III dan kelompok IV, tampak mukosa kolon tidak terlalu mengalami kerusakan, kripta masih banyak yang normal panjang, lurus dan dalam, dengan sel goblet, namun beberapa kripta irregular (tanda panah), sehingga penilaian skor menurut Kim dkk termasuk kategori 1.¹⁹ Gambaran histopatologik kelompok Ara dosis 28 mg/ hari yang diinduksi DSS 2,5% adalah yang paling baik, hampir setara dengan kelompok K-ARA.

Kerusakan Mukosa Kolon Mencit Model Kolitis Ulserativa

Setelah dilakukan penilaian sistim skoring, maka dilakukan uji statistik uji statistik Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Dari hasil uji statistik Kruskal-Wallis didapatkan nilai $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata kerusakan mukosa kolon antar kelompok perlakuan K-DSS dengan kelompok K-ARA. Selanjutnya untuk mengetahui kelompok perlakuan ekstrak metanol daun Ara yang mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan uji lanjut Mann-Whitney.

Analisis uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa kelompok K-DSS berbeda bermakna dengan semua kelompok yang lain ($p < 0,05$). Kelompok ARA-1 berbeda bermakna dengan kelompok K-ARA dan ARA-3 ($p < 0,05$), sedangkan dengan kelompok ARA-2 tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$). Kelompok K-ARA tidak berbeda bermakna dengan kelompok ARA-2 dan ARA-3 ($p > 0,05$). Hasil uji Mann-Whitney diperlihatkan pada Tabel 2 di bawah ini.

Research Article

Tabel 2 Perbandingan Kerusakan Mukosa Kolon Antar Kelompok Perlakuan

	K-DSS X = 3,20	K-ARA X = 0,20	ARA-1 X = 1,12	ARA-2 X = 0,56	ARA-3 X = 0,32
K-DSS X = 3,20		*p = 0,029	*p = 0,029	*p = 0,029	*p = 0,029
K-ARA X = 0,20			*p = 0,029	TB p = 0,114	TB p = 0,686
ARA-1 X = 1,12				TB p = 0,114	*p = 0,029
ARA-2 X = 0,56					TB p = 0,20
ARA-3 X = 0,32					

Keterangan: X = rerata, * = bermakna ($p \leq 0,05$), TB= tidak bermakna ($p > 0,05$)

Pada Tabel 2 jelas terlihat adanya perbedaan bermakna antar kelompok K-DSS dengan kelompok yang lainnya; kelompok K-ARA dengan kelompok ARA-1; kelompok ARA-1 dengan kelompok ARA-3 dengan nilai $p \leq 0,05$.

Kadar IL-6 Serum pada Berbagai Kelompok Perlakuan

Kadar IL-6 serum setiap mencit dari kelompok perlakuan diukur secara ELISA, kemudian dibaca menggunakan ELISA *plate reader*, sehingga didapatkan hasil kuantitatif dari kadar IL-6 serum. Penilaian kadar IL-6 serum diolah secara statistik menggunakan analisis varian (ANOVA) satu arah yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* rentang Duncan untuk melihat kelompok mana yang berbeda bermakna.

Tabel 3 Hasil Pengukuran Kadar IL- 6 Serum (pg/mL)

Mencit	Kelompok perlakuan				
	K-DSS	K-ARA	ARA-1	ARA-2	ARA-3
1	232,222	18,786	74,768	71,467	33,599
2	222,488	34,807	107,621	16,023	7,201
3	202,822	3,268	8,645	3,766	39,163
4	239,875	8,166	65,400	0,000	20,554
5	214,321	20,244	80,015	49,078	30,971
Rerata	222,346	17,054	67,290	28,067	26,298

Tabel 3 adalah data awal pengukuran kadar IL-6 serum kuantitatif. Dari tabel terlihat bahwa kadar IL-6 pada kelompok I yang hanya diberikan DSS 2,5% hasilnya sangat tinggi yaitu 222,346 pg/mL dibandingkan kelompok yang diberikan ekstrak metanol daun Ara terlebih dahulu. Hasil yang paling rendah didapatkan pada kelompok K-ARA yaitu kelompok yang

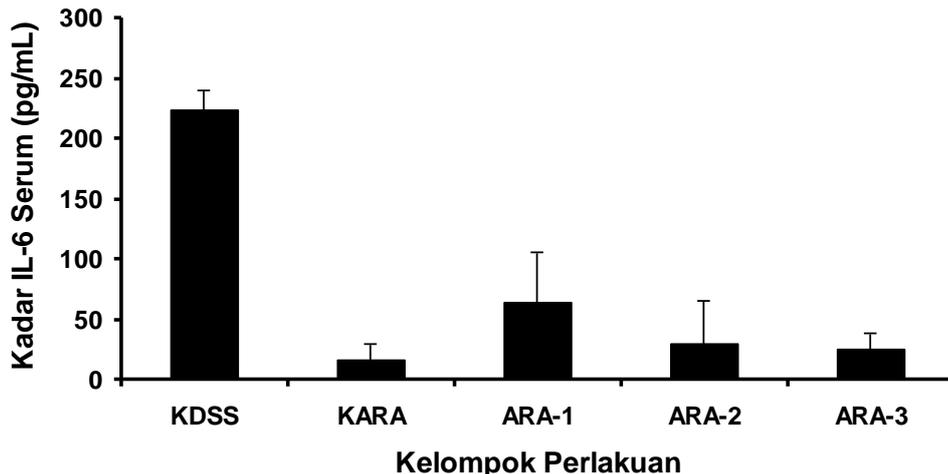
Research Article

hanya diberikan ekstrak metanol daun Ara tanpa diinduksi oleh DSS 2,5%, yaitu rata-rata 17,054 pg/mL; sedangkan kelompok yang diberikan ekstrak metanol daun Ara dan diinduksi DSS 2,5% paling tinggi kadar IL-6 pada kelompok ARA-1 (67,290 pg/mL) dan paling rendah kadar IL-6 pada kelompok ARA-3 (26,298 pg/mL).

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa nilai p dari setiap kelompok lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$). Hal ini berarti data kadar IL-6 pada setiap kelompok perlakuan berdistribusi normal, sehingga dapat dilakukan analisis statistik parametrik dengan menggunakan analisis varian (ANOVA).

Hasil uji statistik dengan metoda ANOVA didapatkan nilai $p < 0,001$. Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok K-DSS dengan kelompok yang lainnya. Selanjutnya untuk menentukan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak metanol daun Ara dilakukan uji rentang Duncan.

Analisis uji rentang Duncan menunjukkan bahwa kadar IL-6 antara kelompok K-DSS dengan kelompok lainnya terdapat perbedaan bermakna. Kelompok K-ARA dengan kelompok ARA-1 juga berbeda bermakna. Kelompok K-ARA, ARA-2 dan ARA-3 tidak memiliki perbedaan bermakna.



Gambar 6 Rerata Kadar IL-6 (pg/mL) dari Berbagai Kelompok Perlakuan

Kadar IL-6 pada kelompok K-DSS sangat tinggi jauh melampaui kelompok perlakuan yang lain, yaitu 222,346 pg/mL. Kelompok K-ARA memiliki kadar yang paling rendah, yaitu 17,054 pg/mL.

Research Article

Diskusi

Pada hasil yang tertera pada Tabel 1, skoring kerusakan mukosa kolon yang paling tinggi terdapat pada kelompok K-DSS, yang ditandai dengan adanya ulserasi kecil-sedang, namun lebar ulserasi tidak melebihi 10 kripta (skor 5). Hal ini sesuai dengan penelitian menurut Dieleman dkk, Stevcera dkk, serta Khiong dkk yang menyatakan bahwa pemberian DSS 2,5 – 5% dalam air minum mencit selama 7 hari sudah dapat memicu timbulnya KU.^{10,17,18} Pemberian EMDA sebagai terapi pencegahan terhadap beratnya kerusakan akibat pemberian DSS, ternyata terbukti dapat mengurangi kerusakan mukosa kolon seperti terlihat pada Gambar 4. kelompok ARA-2 dan Gambar 5. kelompok ARA-3. Perbedaan sangat bermakna bila dibandingkan dengan Gambar 1. pada kelompok K-DSS, terlihat bagian-bagian mukosa kolon yang mengalami ulserasi. DSS 2,5% dapat mengubah struktur kripta sedemikian rupa, dari mulai perubahan bentuk kripta menjadi irregular sampai hilangnya kripta, perubahan epitel dari silindris menjadi gepeng sampai kerusakan epitel yang menimbulkan ulserasi. Melalui pemberian EMDA terlebih dahulu, maka kerusakan yang berat karena pemberian DSS 2,5% dapat dicegah, sehingga tidak sampai timbul ulserasi. Hal ini sesuai dengan penelitian Ali dkk yang meneliti efek anti peradangan ekstrak hidroalkohol daun Ara pada tikus yang ternyata memiliki efek anti peradangan yang sebanding dengan *indometacin* (obat anti peradangan).¹⁶ Hal ini terjadi kemungkinan karena kandungan antioksidan *flavonoid* yang tinggi dalam daun Ara dapat melindungi kerusakan mukosa kolon akibat peradangan yang timbul karena meningkatnya radikal bebas.^{20,21} Peningkatan radikal bebas seperti ROS dan RNI disebabkan karena aktivasi NF-κB akibat adanya cedera epitel kolon yang dapat merangsang pengeluaran sitokin proinflamasi seperti IL-6. IL-6 dapat meningkatkan pengeluaran radikal bebas dalam sel. Radikal bebas yang terbentuk dapat memicu timbulnya peradangan. Hal ini berlangsung terus menerus, sehingga perlu adanya antioksidan untuk mencegah peradangan semakin luas dan lama, yang mana peradangan kronis dapat memicu timbulnya kanker. Hal ini disebabkan peranan IL-6 ternyata mengakibatkan proliferasi sel yang dapat memicu kanker.^{5,6,8} Pemberian EMDA sebelum induksi KU dapat mengurangi kerusakan mukosa kolon dan menekan pengeluaran IL-6, hal ini tampak pada kelompok ARA-3 yang diberikan dosis EMDA terbesar 28 mg/hari memiliki skoring kerusakan mukosa kolon yang paling kecil dengan skor 0,32 dan kadar IL-6 dalam serum yang paling rendah yaitu 26,298 pg/mL.

Analisis uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis terhadap skoring kerusakan mukosa kolon dan gambaran histopatologik antar kelompok perlakuan memperlihatkan perbedaan yang sangat signifikan antara kelompok perlakuan yang diberikan DSS tanpa diberi terapi pencegahan EMDA dengan yang diberikan terapi pencegahan EMDA ($p = 0,003$ atau $p >$

Research Article

0,01). Analisis uji Mann-Whitney menunjukkan kelompok ARA-1 dengan dosis EMDA terkecil (7 mg/hari) berbeda bermakna dengan K-ARA dan ARA-3 yang diberikan dosis EMDA yang lebih tinggi (14 dan 28 mg/hari). Hal ini kemungkinan kandungan antioksidan yang tinggi dan dihipotesiskan semakin tinggi dosis, semakin tinggi efek proteksi terhadap kerusakan mukosa kolon akibat DSS, namun dengan demikian belum diketahui dosis maksimal EMDA.

Pada Tabel 3, terlihat kadar IL-6 serum paling tinggi pada kelompok K-DSS yang hanya diberikan DSS 2,5% yaitu rata-rata 222,346 pg/mL, sedangkan kadar IL-6 pada kelompok yang diinduksi DSS 2,5%, namun sebelumnya diberikan EMDA, kadar serum paling rendah pada kelompok yang diberikan EMDA dosis 28 mg/hari, yaitu rata-rata 26,298 pg/mL. Hal ini sesuai dengan penelitian Dieleman dkk, bahwa pada mencit galur *Balb/C* yang diberikan DSS 2,5%-5% terjadi peningkatan sitokin makrofag seperti TNF- α dan IL-6 bila dibandingkan dengan mencit yang tidak diberikan DSS 2,5%-5%. Antioksidan yang terdapat dalam kandungan daun Ara dapat mengurangi pengeluaran radikal bebas pada cedera mukosa kolon oleh DSS 2,5%, sehingga menekan pengeluaran IL-6.^{13,14,17,18,22}

Hasil penelitian yang didapat sesuai dengan pernyataan yang telah diuraikan di atas, bahwa antioksidan dapat menekan pengeluaran radikal bebas yang timbul karena cedera mukosa kolon yang bisa mengaktivasi NF- κ B dan menyebabkan peningkatan pengeluaran IL-6, sehingga pemberian EMDA yang memiliki kandungan tinggi antioksidan flavonoid bisa menekan peradangan yang dapat merusak mukosa kolon dan juga menekan pengeluaran IL-6.^{6,8,11,12,15}

Simpulan

Pemberian EMDA pada mencit model kolitis ulserativa sebelum induksi dengan DSS 2,5% dapat mengurangi kerusakan mukosa kolon sehingga memberikan gambaran histopatologik mukosa kolon yang lebih baik dibandingkan dengan kelompok K-DSS yang tidak diberikan EMDA sebelumnya, juga menekan peningkatan kadar IL-6 dibandingkan dengan kelompok K-DSS yang tidak diberikan EMDA sebelumnya.

Daftar Pustaka

1. Ulcerative Colitis: Inflammatory Bowel Disease. □Cited 22 Desember 2008□□Available from: <http://www.preventdisease.com/diseases/diseases.html>.
2. Peter Anugerah. Patofisiologi. Konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi ke-4. Buku pertama. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC;1994.h 415-7.
3. Friedman S, Blumberg RS. Inflammatory Bowel Disease. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL et al, editor. Harrison's Principles of Internal Medicine. Edisi ke-17.Vol 2 .New York: Mc. Graw-Hill;2008.h.1886-99.
4. Stenson WF. Inflammatory Bowel Disease. In: Yamada T, Alpers DH, Powell DW, Owyang C, Silverstein FE,

Research Article

- editor. Textbook of Gastroenterology. Edisi ke-2. Philadelphia: J.B. Lippincott Company; 1995. h.1748-99
5. Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer. California: Departments of Pharmacology and Pathology. [19 Maret 2010; cited 24 November 2010] Available from: <http://download.cell.com/pdf/PIIS0092867410000607.pdf?intermediate=true>.
 6. Meira LB, Bugni JM, Green SL, Lee CW, Pang B, Borenshtein D, et al. DNA damage induced by chronic inflammation contributes to colon carcinogenesis in mice. *J Clin Invest*; 2008.118(7):2516-25. Available from : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2423313/>
 7. Mitsuyama K, Tomiyasu N, Takaki K, Masuda J, Yamasaki H, Kuwaki K, et al. Interleukin-10 in the pathophysiology of inflammatory bowel disease: Increased serum concentrations during the recovery phase. Japan: Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation; 2006. *Mediators Inflamm*. 2006;(6):268-75 [Cited 26 Mei 2010] Available from <http://downloads.hindawi.com/journals/mi/2006/026875.pdf>
 8. Burstein E, Fearon ER. Colitis and cancer: a tale of inflammatory cells and their cytokines. *J Clin Invest*. 2008;118:464-467 [Cited 1 September 2010] Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2213379/>
 9. Urquiaga I, Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Departamento de Biología Celular Molecular. Biol Res*.2000;33(2):55-64 [Cited 6 November 2010]. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=s0716-9760200000200004&script=sci_arttext
 10. Khiong K, Ratnawati H, Soeng S, Sugeng SU, Angelie E dan Nasser M. Efek imunomodulator buah merah (*Pandanus conoideus* Lam) terhadap mencit (*Mus musculus*) galur DDY yang diinduksi colitis dengan DSS. KONAS XII dan PIN PAAI (Perhimpunan Ahli Anatomi Indonesia) 2008. Jakarta, 20-21 Juni 2008.
 11. Mohan GK, Pallavi E, Kumar BR, Ramesh M, Venkatesh S. Hepatoprotective activity of *Ficus carica* Linn. leaf extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *DARU*.2007;15 (3): 162-6.
 12. Vinson JA, The functional food properties of figs. *American Association of Cereal Chemists*.1999;44(2):82-7.
 13. Mawa S, Husain K, Jantan I. *Ficus Carica* L. (Moraceae): Phytochemistry, Traditional Uses and Biological Activities. Drug and Herbal Research Centre, Faculty of Pharmacy, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur. Hindawi Evidence-Based Complement Altern Med.2013;974256. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2013/974256/>
 14. Health benefits of figs or anjeer. Organic Facts Unbiased info on nutrition, benefits of food and home remedies. Spanyol dan Perancis. 2016. Available from:// <http://www.organicfacts.net/health-benefits/fruit/health-benefits-of-figs-or-anjeer.html>
 16. Hashemi SA, Abediankenari S. Suppressive Effect of Fig (*Ficus carica*) Latex on Esophageal Cancer Cell Proliferation. Microbiology and Immunology Department. Mazandaran University of Medical Sciences, Sari Iran. *Journal of Acta Facultatis Medicae Naissensis*.2013;30(2):93-6.
 17. Ali B, Mujeeb M, Aeri V, Mir SR., Faiyazuddin M, Shakeel F. Anti-inflammatory and antioxidant activity of *Ficus carica* Linn. Leaves. *Natural Product Research Journal*.2012;26(5)
 18. Dieleman LA, Palmen MJHJ, Akol H, Bloemena E, Pena AS, Meuwissen SGM, et al. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines. *Clinical and Experimental Immunology*.1998;114(3):385-91.
 19. Stevcera L, Pavli P, Husband A, Ramsay A, Doe WF. Dextran sulphate sodium-induced colitis is ameliorated in interleukin 4 deficient mice. *Genes Immun*.2001;2(6):309-16.
 20. Kim TW, Seo JN, Suh YH, Park HJ, Kim JH, Kim JY, et al. Involvement of lymphocytes in dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. *World Journal Gastroenterology*.2006;12(2):302-5.
 21. Fatemi A, Rasouli A, Asadi F. Effect of fig (*Ficus carica*) leaf extract on the secretion and content of cholesterol in Hepg2 cell. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*.2007;2(4):104-7.
 22. Vaya J, Mahmood S. Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua*) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *Journal BioFactors*.2006;28(3-4):169-75.
 23. *Ficus carica*-L Plants for a future edible, medicinal and useful plants for a healthier world. Ficus –carica-Plants for A Future database Report.. [Cited 13 Agustus 2008] Available from <http://www.lifemelusa.com/fig.pdf>