

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulcerative Colitis (UC) adalah penyakit yang termasuk *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), bersamaan dengan *Crohn's disease* (CD). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan suatu keadaan inflamasi kronik akibat kelainan regulasi sistem imun mukosa yang disebabkan oleh kerentanan genetik, rangsangan flora usus normal, dan disfungsi barier sel epitel (Kumar *et al.*, 2010). IBD mengenai 1,4 juta orang Amerika dengan onset usia 15-30 tahun (Abraham *et al.*, 2009).

Komplikasi jangka panjang yang sangat tidak diinginkan pada IBD adalah perkembangan menjadi neoplasia, terutama pada UC yang mengenai seluruh kolon selama 10 tahun atau lebih (Papivanova *et al.*, 2008). Meskipun insidensi IBD untuk daerah Asia kecil, namun angka ini telah mengalami kenaikan secara global (Kumar *et al.*, 2010).

Pemberian DSS secara oral pada mencit telah dilaporkan dapat menginduksi kolitis akut dan kronik (Dieleman *et al.*, 1998). Gejala dan histopatologis kolon mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS lebih menyerupai UC pada manusia, dibandingkan dengan kolitis yang diinduksi oleh zat kimiawi lain, dimana hal ini telah menjadi alat penelitian bagi patogenesis UC dan perkembangan obat-obatan baru (Zheng *et al.*, 2005).

Pemberian 3-5 siklus DSS 3% (w/v) secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada tikus (Okayasu *et al.*, 2002). Ini membuktikan bahwa hanya dengan respon inflamasi saja dapat menyebabkan terjadinya karsinoma kolon. Selain pemberian DSS, *Azoxymehane* (AOM) juga sering digunakan dalam menginduksi tumor pada kolon distal. Penelitian membuktikan bahwa aktivasi NF- κ B dan TNF- α mengambil peranan yang penting dalam perkembangan kolitis menjadi keganasan (Papivanova *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab terjadinya IBD adalah hilangnya toleransi terhadap mikroba yang normal terdapat dalam usus dan aktivasi sistem imunologi pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterik (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP memiliki lymphoepithelium yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Mencit dengan defisien PP yang diinduksi kolitis dengan DSS menunjukkan derajat penyakit kolitis yang lebih berat daripada mencit normal yang diinduksi dengan DSS. Mencit yang defisien PP bila diinduksi kolitis dengan DSS akan menunjukkan derajat *clinical score* yang lebih parah. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Dalam banyak penelitian dilaporkan bahwa antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006). Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Masyarakat Papua memanfaatkan buah merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan ternyata memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan. Testimoni mengenai khasiat buah merah secara empiris sebagai pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, dan infeksi telah banyak dilaporkan, namun penelitian baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Merah sebanyak 0,1 mL/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* (Hana *et al.*, 2008). Pemberian 0,1 mL ekstrak Buah Merah setiap hari selama 3 minggu selain dapat

menurunkan derajat keparahan penyakit yang ditandai dengan menurunnya *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008).

Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui apakah Buah Merah dapat mengurangi *clinical score* pada mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS, dengan mengamati derajat diare dan derajat perdarahan rektum.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah minyak Buah Merah mengurangi derajat diare dan perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam memodulasi sistem imun pada mencit defisiensi PP.

Tujuan penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam mengurangi derajat diare dan derajat perdarahan rektum yang diukur dari penurunan derajat diare dan derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat akademis adalah memperluas wawasan pembaca mengenai tanaman obat asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

Manfaat praktis adalah untuk mengeksplorasi potensi buah merah dengan menilai derajat keparahan/*clinical score* pada perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Ulcerative Colitis (UC) merupakan manifestasi kerusakan DNA dengan keadaan sel mukosa yang tidak stabil. Kejadian yang berulang akan mengarah ke perburukan dan menyebabkan displasia epitel dan dapat berkembang menjadi kanker. UC menunjukkan gejala diare dengan darah yang terkadang berlangsung berbulan-bulan. UC yang mengenai seluruh bagian kolon selama lebih dari 10 tahun merupakan predisposisi terjadi kanker kolon. Risiko terjadinya kanker 20-30 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol populasi. Insidensi UC di Amerika mencapai 4-12 / 100.000 jiwa dan mengalami peningkatan pada dekade terakhir. Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mencegah kanker pada pasien UC (Papivanova *et al.*, 2008).

Pemberian DSS secara oral pada mencit sudah banyak digunakan untuk merekapitulasi UC pada manusia, karena pemberian DSS ini menyebabkan reaksi inflamasi akut dan ulserasi pada seluruh bagian kolon yang juga ditemukan pada pasien UC. Dengan hanya pemberian 3-5 siklus DSS 3% secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada mencit (Okayasu *et al.*, 2002). Ini menunjukkan bahwa suatu respon inflamasi dapat menyebabkan kanker kolon. Pemberian *Azoxymethane* (AOM) juga sering digunakan untuk menginduksi tumor pada kolon distal mencit bersamaan dengan pemberian DSS (Papivanova *et al.*, 2008).

Mekanisme terjadinya kolitis pada mencit yang diinduksi DSS masih belum sepenuhnya diketahui. Diduga bahwa DSS merusak sel epitel kolon secara langsung dan menyebabkan gangguan pada barrier epitel kolon sehingga monosit-makrofag pada lamina propria dapat teraktivasi dan makrofag akan mempresentasikan peptida asing kepada sel T dan kemudian akan disekresikan sitokin proinflamasi. Penelitian juga menunjukkan bahwa limfosit memainkan

peranan penting pada kolitis yang diinduksi DSS, namun mekanisme pastinya masih belum sepenuhnya terungkap (Kim *et al.*, 2006).

IBD berasosiasi dengan menurunnya toleransi terhadap flora normal intestinal dan terjadi aktivasi imun pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterikus (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP merupakan folikel limfoid pada dinding intestinal yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Organogenesis PP secara umum terdiri dari 3 tahapan, yaitu: tahap pertama ditandai dengan ekspresi VCAM-1⁺ dan ICAM-1⁺ pada 15,5 hari *postcoitus*, tahap kedua ditandai dengan akumulasi IL-7R⁺ dan atau CD4⁺ pada 17,5 hari *postcoitus*, dan tahap ketiga adalah formasi limfosit yang mengekspresikan CD3 dan B220 pada 18,5 hari *postcoitus* (Adachi *et al.*, 1997). Dari serangkaian proses hematopoetik, IL-7Rα⁺ merupakan sel yang terpenting dalam organogenesis PP. Maka dari itu injeksi anti- IL-7Rα dapat menghambat perkembangan PP pada mencit yang bunting (Honda *et al.*, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa mencit dengan defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS memiliki derajat penyakit kolitis yang lebih berat, luas ulserasi yang lebih luas, panjang kolon yang lebih pendek, dan penurunan berat badan yang lebih tinggi. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN sehingga terjadi kegagalan toleransi yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Patogenesis terjadinya IBD berhubungan dengan disregulasi respon imun terhadap antigen bakteri yang normal terdapat dalam usus. Akibat aktivasi sistem imun yang tidak terkontrol ini terjadi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan stabilitas membran seluler dan kematian sel, yang akhirnya akan memperburuk inflamasi itu sendiri. Oleh karena itu pada inflamasi

kronik didapatkan ketidakseimbangan mekanisme prooksidan dan antioksidan. Banyak penelitian menyebutkan bahwa pemberian antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam mengatasi kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006).

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian 0,1 mL minyak buah merah setiap hari selama 3 minggu ternyata selain dapat menurunkan derajat *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian buah merah dengan dosis 0,1 mL selama 48 hari terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal (Khiong *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal-hal di atas maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh Buah Merah dalam memodulasi respon imun mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.5.2 Hipotesis

Buah merah mengurangi derajat diare pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Buah merah mengurangi derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL). *Clinical score* diukur berdasarkan penurunan diare dan pendarahan rektum. Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan akan dilanjutkan bila diperoleh hasil yang bermakna dengan Mann Withney-U dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulcerative Colitis (UC) adalah penyakit yang termasuk *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), bersamaan dengan *Crohn's disease* (CD). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan suatu keadaan inflamasi kronik akibat kelainan regulasi sistem imun mukosa yang disebabkan oleh kerentanan genetik, rangsangan flora usus normal, dan disfungsi barier sel epitel (Kumar *et al.*, 2010). IBD mengenai 1,4 juta orang Amerika dengan onset usia 15-30 tahun (Abraham *et al.*, 2009).

Komplikasi jangka panjang yang sangat tidak diinginkan pada IBD adalah perkembangan menjadi neoplasia, terutama pada UC yang mengenai seluruh kolon selama 10 tahun atau lebih (Papivanova *et al.*, 2008). Meskipun insidensi IBD untuk daerah Asia kecil, namun angka ini telah mengalami kenaikan secara global (Kumar *et al.*, 2010).

Pemberian DSS secara oral pada mencit telah dilaporkan dapat menginduksi kolitis akut dan kronik (Dieleman *et al.*, 1998). Gejala dan histopatologis kolon mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS lebih menyerupai UC pada manusia, dibandingkan dengan kolitis yang diinduksi oleh zat kimiawi lain, dimana hal ini telah menjadi alat penelitian bagi patogenesis UC dan perkembangan obat-obatan baru (Zheng *et al.*, 2005).

Pemberian 3-5 siklus DSS 3% (w/v) secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada tikus (Okayasu *et al.*, 2002). Ini membuktikan bahwa hanya dengan respon inflamasi saja dapat menyebabkan terjadinya karsinoma kolon. Selain pemberian DSS, *Azoxymehane* (AOM) juga sering digunakan dalam menginduksi tumor pada kolon distal. Penelitian membuktikan bahwa aktivasi NF- κ B dan TNF- α mengambil peranan yang penting dalam perkembangan kolitis menjadi keganasan (Papivanova *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab terjadinya IBD adalah hilangnya toleransi terhadap mikroba yang normal terdapat dalam usus dan aktivasi sistem imunologi pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterik (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP memiliki lymphoepithelium yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Mencit dengan defisien PP yang diinduksi kolitis dengan DSS menunjukkan derajat penyakit kolitis yang lebih berat daripada mencit normal yang diinduksi dengan DSS. Mencit yang defisien PP bila diinduksi kolitis dengan DSS akan menunjukkan derajat *clinical score* yang lebih parah. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Dalam banyak penelitian dilaporkan bahwa antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006). Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Masyarakat Papua memanfaatkan buah merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan ternyata memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan. Testimoni mengenai khasiat buah merah secara empiris sebagai pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, dan infeksi telah banyak dilaporkan, namun penelitian baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Merah sebanyak 0,1 mL/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* (Hana *et al.*, 2008). Pemberian 0,1 mL ekstrak Buah Merah setiap hari selama 3 minggu selain dapat

menurunkan derajat keparahan penyakit yang ditandai dengan menurunnya *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008).

Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui apakah Buah Merah dapat mengurangi *clinical score* pada mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS, dengan mengamati derajat diare dan derajat perdarahan rektum.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah minyak Buah Merah mengurangi derajat diare dan perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam memodulasi sistem imun pada mencit defisiensi PP.

Tujuan penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam mengurangi derajat diare dan derajat perdarahan rektum yang diukur dari penurunan derajat diare dan derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat akademis adalah memperluas wawasan pembaca mengenai tanaman obat asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

Manfaat praktis adalah untuk mengeksplorasi potensi buah merah dengan menilai derajat keparahan/*clinical score* pada perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Ulcerative Colitis (UC) merupakan manifestasi kerusakan DNA dengan keadaan sel mukosa yang tidak stabil. Kejadian yang berulang akan mengarah ke perburukan dan menyebabkan displasia epitel dan dapat berkembang menjadi kanker. UC menunjukkan gejala diare dengan darah yang terkadang berlangsung berbulan-bulan. UC yang mengenai seluruh bagian kolon selama lebih dari 10 tahun merupakan predisposisi terjadi kanker kolon. Risiko terjadinya kanker 20-30 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol populasi. Insidensi UC di Amerika mencapai 4-12 / 100.000 jiwa dan mengalami peningkatan pada dekade terakhir. Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mencegah kanker pada pasien UC (Papivanova *et al.*, 2008).

Pemberian DSS secara oral pada mencit sudah banyak digunakan untuk merekapitulasi UC pada manusia, karena pemberian DSS ini menyebabkan reaksi inflamasi akut dan ulserasi pada seluruh bagian kolon yang juga ditemukan pada pasien UC. Dengan hanya pemberian 3-5 siklus DSS 3% secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada mencit (Okayasu *et al.*, 2002). Ini menunjukkan bahwa suatu respon inflamasi dapat menyebabkan kanker kolon. Pemberian *Azoxymethane* (AOM) juga sering digunakan untuk menginduksi tumor pada kolon distal mencit bersamaan dengan pemberian DSS (Papivanova *et al.*, 2008).

Mekanisme terjadinya kolitis pada mencit yang diinduksi DSS masih belum sepenuhnya diketahui. Diduga bahwa DSS merusak sel epitel kolon secara langsung dan menyebabkan gangguan pada barrier epitel kolon sehingga monosit-makrofag pada lamina propria dapat teraktivasi dan makrofag akan mempresentasikan peptida asing kepada sel T dan kemudian akan disekresikan sitokin proinflamasi. Penelitian juga menunjukkan bahwa limfosit memainkan

peranan penting pada kolitis yang diinduksi DSS, namun mekanisme pastinya masih belum sepenuhnya terungkap (Kim *et al.*, 2006).

IBD berasosiasi dengan menurunnya toleransi terhadap flora normal intestinal dan terjadi aktivasi imun pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterikus (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP merupakan folikel limfoid pada dinding intestinal yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Organogenesis PP secara umum terdiri dari 3 tahapan, yaitu: tahap pertama ditandai dengan ekspresi VCAM-1⁺ dan ICAM-1⁺ pada 15,5 hari *postcoitus*, tahap kedua ditandai dengan akumulasi IL-7R⁺ dan atau CD4⁺ pada 17,5 hari *postcoitus*, dan tahap ketiga adalah formasi limfosit yang mengekspresikan CD3 dan B220 pada 18,5 hari *postcoitus* (Adachi *et al.*, 1997). Dari serangkaian proses hematopoetik, IL-7Rα⁺ merupakan sel yang terpenting dalam organogenesis PP. Maka dari itu injeksi anti- IL-7Rα dapat menghambat perkembangan PP pada mencit yang bunting (Honda *et al.*, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa mencit dengan defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS memiliki derajat penyakit kolitis yang lebih berat, luas ulserasi yang lebih luas, panjang kolon yang lebih pendek, dan penurunan berat badan yang lebih tinggi. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN sehingga terjadi kegagalan toleransi yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Patogenesis terjadinya IBD berhubungan dengan disregulasi respon imun terhadap antigen bakteri yang normal terdapat dalam usus. Akibat aktivasi sistem imun yang tidak terkontrol ini terjadi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan stabilitas membran seluler dan kematian sel, yang akhirnya akan memperburuk inflamasi itu sendiri. Oleh karena itu pada inflamasi

kronik didapatkan ketidakseimbangan mekanisme prooksidan dan antioksidan. Banyak penelitian menyebutkan bahwa pemberian antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam mengatasi kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006).

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian 0,1 mL minyak buah merah setiap hari selama 3 minggu ternyata selain dapat menurunkan derajat *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian buah merah dengan dosis 0,1 mL selama 48 hari terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal (Khiong *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal-hal di atas maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh Buah Merah dalam memodulasi respon imun mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.5.2 Hipotesis

Buah merah mengurangi derajat diare pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Buah merah mengurangi derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL). *Clinical score* diukur berdasarkan penurunan diare dan pendarahan rektum. Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan akan dilanjutkan bila diperoleh hasil yang bermakna dengan Mann Withney-U dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulcerative Colitis (UC) adalah penyakit yang termasuk *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), bersamaan dengan *Crohn's disease* (CD). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan suatu keadaan inflamasi kronik akibat kelainan regulasi sistem imun mukosa yang disebabkan oleh kerentanan genetik, rangsangan flora usus normal, dan disfungsi barier sel epitel (Kumar *et al.*, 2010). IBD mengenai 1,4 juta orang Amerika dengan onset usia 15-30 tahun (Abraham *et al.*, 2009).

Komplikasi jangka panjang yang sangat tidak diinginkan pada IBD adalah perkembangan menjadi neoplasia, terutama pada UC yang mengenai seluruh kolon selama 10 tahun atau lebih (Papivanova *et al.*, 2008). Meskipun insidensi IBD untuk daerah Asia kecil, namun angka ini telah mengalami kenaikan secara global (Kumar *et al.*, 2010).

Pemberian DSS secara oral pada mencit telah dilaporkan dapat menginduksi kolitis akut dan kronik (Dieleman *et al.*, 1998). Gejala dan histopatologis kolon mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS lebih menyerupai UC pada manusia, dibandingkan dengan kolitis yang diinduksi oleh zat kimiawi lain, dimana hal ini telah menjadi alat penelitian bagi patogenesis UC dan perkembangan obat-obatan baru (Zheng *et al.*, 2005).

Pemberian 3-5 siklus DSS 3% (w/v) secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada tikus (Okayasu *et al.*, 2002). Ini membuktikan bahwa hanya dengan respon inflamasi saja dapat menyebabkan terjadinya karsinoma kolon. Selain pemberian DSS, *Azoxymehane* (AOM) juga sering digunakan dalam menginduksi tumor pada kolon distal. Penelitian membuktikan bahwa aktivasi NF- κ B dan TNF- α mengambil peranan yang penting dalam perkembangan kolitis menjadi keganasan (Papivanova *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab terjadinya IBD adalah hilangnya toleransi terhadap mikroba yang normal terdapat dalam usus dan aktivasi sistem imunologi pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterik (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP memiliki lymphoepithelium yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Mencit dengan defisien PP yang diinduksi kolitis dengan DSS menunjukkan derajat penyakit kolitis yang lebih berat daripada mencit normal yang diinduksi dengan DSS. Mencit yang defisien PP bila diinduksi kolitis dengan DSS akan menunjukkan derajat *clinical score* yang lebih parah. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Dalam banyak penelitian dilaporkan bahwa antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006). Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Masyarakat Papua memanfaatkan buah merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan ternyata memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan. Testimoni mengenai khasiat buah merah secara empiris sebagai pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, dan infeksi telah banyak dilaporkan, namun penelitian baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Merah sebanyak 0,1 mL/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* (Hana *et al.*, 2008). Pemberian 0,1 mL ekstrak Buah Merah setiap hari selama 3 minggu selain dapat

menurunkan derajat keparahan penyakit yang ditandai dengan menurunnya *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008).

Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui apakah Buah Merah dapat mengurangi *clinical score* pada mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS, dengan mengamati derajat diare dan derajat perdarahan rektum.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah minyak Buah Merah mengurangi derajat diare dan perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam memodulasi sistem imun pada mencit defisiensi PP.

Tujuan penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam mengurangi derajat diare dan derajat perdarahan rektum yang diukur dari penurunan derajat diare dan derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat akademis adalah memperluas wawasan pembaca mengenai tanaman obat asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

Manfaat praktis adalah untuk mengeksplorasi potensi buah merah dengan menilai derajat keparahan/*clinical score* pada perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Ulcerative Colitis (UC) merupakan manifestasi kerusakan DNA dengan keadaan sel mukosa yang tidak stabil. Kejadian yang berulang akan mengarah ke perburukan dan menyebabkan displasia epitel dan dapat berkembang menjadi kanker. UC menunjukkan gejala diare dengan darah yang terkadang berlangsung berbulan-bulan. UC yang mengenai seluruh bagian kolon selama lebih dari 10 tahun merupakan predisposisi terjadi kanker kolon. Risiko terjadinya kanker 20-30 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol populasi. Insidensi UC di Amerika mencapai 4-12 / 100.000 jiwa dan mengalami peningkatan pada dekade terakhir. Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mencegah kanker pada pasien UC (Papivanova *et al.*, 2008).

Pemberian DSS secara oral pada mencit sudah banyak digunakan untuk merekapitulasi UC pada manusia, karena pemberian DSS ini menyebabkan reaksi inflamasi akut dan ulserasi pada seluruh bagian kolon yang juga ditemukan pada pasien UC. Dengan hanya pemberian 3-5 siklus DSS 3% secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada mencit (Okayasu *et al.*, 2002). Ini menunjukkan bahwa suatu respon inflamasi dapat menyebabkan kanker kolon. Pemberian *Azoxymethane* (AOM) juga sering digunakan untuk menginduksi tumor pada kolon distal mencit bersamaan dengan pemberian DSS (Papivanova *et al.*, 2008).

Mekanisme terjadinya kolitis pada mencit yang diinduksi DSS masih belum sepenuhnya diketahui. Diduga bahwa DSS merusak sel epitel kolon secara langsung dan menyebabkan gangguan pada barrier epitel kolon sehingga monosit-makrofag pada lamina propria dapat teraktivasi dan makrofag akan mempresentasikan peptida asing kepada sel T dan kemudian akan disekresikan sitokin proinflamasi. Penelitian juga menunjukkan bahwa limfosit memainkan

peranan penting pada kolitis yang diinduksi DSS, namun mekanisme pastinya masih belum sepenuhnya terungkap (Kim *et al.*, 2006).

IBD berasosiasi dengan menurunnya toleransi terhadap flora normal intestinal dan terjadi aktivasi imun pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterikus (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP merupakan folikel limfoid pada dinding intestinal yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Organogenesis PP secara umum terdiri dari 3 tahapan, yaitu: tahap pertama ditandai dengan ekspresi VCAM-1⁺ dan ICAM-1⁺ pada 15,5 hari *postcoitus*, tahap kedua ditandai dengan akumulasi IL-7R⁺ dan atau CD4⁺ pada 17,5 hari *postcoitus*, dan tahap ketiga adalah formasi limfosit yang mengekspresikan CD3 dan B220 pada 18,5 hari *postcoitus* (Adachi *et al.*, 1997). Dari serangkaian proses hematopoetik, IL-7R⁺ merupakan sel yang terpenting dalam organogenesis PP. Maka dari itu injeksi anti- IL-7R α dapat menghambat perkembangan PP pada mencit yang bunting (Honda *et al.*, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa mencit dengan defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS memiliki derajat penyakit kolitis yang lebih berat, luas ulserasi yang lebih luas, panjang kolon yang lebih pendek, dan penurunan berat badan yang lebih tinggi. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN sehingga terjadi kegagalan toleransi yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Patogenesis terjadinya IBD berhubungan dengan disregulasi respon imun terhadap antigen bakteri yang normal terdapat dalam usus. Akibat aktivasi sistem imun yang tidak terkontrol ini terjadi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan stabilitas membran seluler dan kematian sel, yang akhirnya akan memperburuk inflamasi itu sendiri. Oleh karena itu pada inflamasi

kronik didapatkan ketidakseimbangan mekanisme prooksidan dan antioksidan. Banyak penelitian menyebutkan bahwa pemberian antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam mengatasi kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006).

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian 0,1 mL minyak buah merah setiap hari selama 3 minggu ternyata selain dapat menurunkan derajat *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian buah merah dengan dosis 0,1 mL selama 48 hari terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal (Khiong *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal-hal di atas maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh Buah Merah dalam memodulasi respon imun mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.5.2 Hipotesis

Buah merah mengurangi derajat diare pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Buah merah mengurangi derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL). *Clinical score* diukur berdasarkan penurunan diare dan pendarahan rektum. Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan akan dilanjutkan bila diperoleh hasil yang bermakna dengan Mann Withney-U dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulcerative Colitis (UC) adalah penyakit yang termasuk *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), bersamaan dengan *Crohn's disease* (CD). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan suatu keadaan inflamasi kronik akibat kelainan regulasi sistem imun mukosa yang disebabkan oleh kerentanan genetik, rangsangan flora usus normal, dan disfungsi barier sel epitel (Kumar *et al.*, 2010). IBD mengenai 1,4 juta orang Amerika dengan onset usia 15-30 tahun (Abraham *et al.*, 2009).

Komplikasi jangka panjang yang sangat tidak diinginkan pada IBD adalah perkembangan menjadi neoplasia, terutama pada UC yang mengenai seluruh kolon selama 10 tahun atau lebih (Papivanova *et al.*, 2008). Meskipun insidensi IBD untuk daerah Asia kecil, namun angka ini telah mengalami kenaikan secara global (Kumar *et al.*, 2010).

Pemberian DSS secara oral pada mencit telah dilaporkan dapat menginduksi kolitis akut dan kronik (Dieleman *et al.*, 1998). Gejala dan histopatologis kolon mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS lebih menyerupai UC pada manusia, dibandingkan dengan kolitis yang diinduksi oleh zat kimiawi lain, dimana hal ini telah menjadi alat penelitian bagi patogenesis UC dan perkembangan obat-obatan baru (Zheng *et al.*, 2005).

Pemberian 3-5 siklus DSS 3% (w/v) secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada tikus (Okayasu *et al.*, 2002). Ini membuktikan bahwa hanya dengan respon inflamasi saja dapat menyebabkan terjadinya karsinoma kolon. Selain pemberian DSS, *Azoxymehane* (AOM) juga sering digunakan dalam menginduksi tumor pada kolon distal. Penelitian membuktikan bahwa aktivasi NF- κ B dan TNF- α mengambil peranan yang penting dalam perkembangan kolitis menjadi keganasan (Papivanova *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab terjadinya IBD adalah hilangnya toleransi terhadap mikroba yang normal terdapat dalam usus dan aktivasi sistem imunologi pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterik (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP memiliki lymphoepithelium yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Mencit dengan defisien PP yang diinduksi kolitis dengan DSS menunjukkan derajat penyakit kolitis yang lebih berat daripada mencit normal yang diinduksi dengan DSS. Mencit yang defisien PP bila diinduksi kolitis dengan DSS akan menunjukkan derajat *clinical score* yang lebih parah. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Dalam banyak penelitian dilaporkan bahwa antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006). Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Masyarakat Papua memanfaatkan buah merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan ternyata memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan. Testimoni mengenai khasiat buah merah secara empiris sebagai pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, dan infeksi telah banyak dilaporkan, namun penelitian baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Merah sebanyak 0,1 mL/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* (Hana *et al.*, 2008). Pemberian 0,1 mL ekstrak Buah Merah setiap hari selama 3 minggu selain dapat

menurunkan derajat keparahan penyakit yang ditandai dengan menurunnya *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008).

Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui apakah Buah Merah dapat mengurangi *clinical score* pada mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS, dengan mengamati derajat diare dan derajat perdarahan rektum.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah minyak Buah Merah mengurangi derajat diare dan perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam memodulasi sistem imun pada mencit defisiensi PP.

Tujuan penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam mengurangi derajat diare dan derajat perdarahan rektum yang diukur dari penurunan derajat diare dan derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat akademis adalah memperluas wawasan pembaca mengenai tanaman obat asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

Manfaat praktis adalah untuk mengeksplorasi potensi buah merah dengan menilai derajat keparahan/*clinical score* pada perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Ulcerative Colitis (UC) merupakan manifestasi kerusakan DNA dengan keadaan sel mukosa yang tidak stabil. Kejadian yang berulang akan mengarah ke perburukan dan menyebabkan displasia epitel dan dapat berkembang menjadi kanker. UC menunjukkan gejala diare dengan darah yang terkadang berlangsung berbulan-bulan. UC yang mengenai seluruh bagian kolon selama lebih dari 10 tahun merupakan predisposisi terjadi kanker kolon. Risiko terjadinya kanker 20-30 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol populasi. Insidensi UC di Amerika mencapai 4-12 / 100.000 jiwa dan mengalami peningkatan pada dekade terakhir. Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mencegah kanker pada pasien UC (Papivanova *et al.*, 2008).

Pemberian DSS secara oral pada mencit sudah banyak digunakan untuk merekapitulasi UC pada manusia, karena pemberian DSS ini menyebabkan reaksi inflamasi akut dan ulserasi pada seluruh bagian kolon yang juga ditemukan pada pasien UC. Dengan hanya pemberian 3-5 siklus DSS 3% secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada mencit (Okayasu *et al.*, 2002). Ini menunjukkan bahwa suatu respon inflamasi dapat menyebabkan kanker kolon. Pemberian *Azoxymethane* (AOM) juga sering digunakan untuk menginduksi tumor pada kolon distal mencit bersamaan dengan pemberian DSS (Papivanova *et al.*, 2008).

Mekanisme terjadinya kolitis pada mencit yang diinduksi DSS masih belum sepenuhnya diketahui. Diduga bahwa DSS merusak sel epitel kolon secara langsung dan menyebabkan gangguan pada barrier epitel kolon sehingga monosit-makrofag pada lamina propria dapat teraktivasi dan makrofag akan mempresentasikan peptida asing kepada sel T dan kemudian akan disekresikan sitokin proinflamasi. Penelitian juga menunjukkan bahwa limfosit memainkan

peranan penting pada kolitis yang diinduksi DSS, namun mekanisme pastinya masih belum sepenuhnya terungkap (Kim *et al.*, 2006).

IBD berasosiasi dengan menurunnya toleransi terhadap flora normal intestinal dan terjadi aktivasi imun pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterikus (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP merupakan folikel limfoid pada dinding intestinal yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Organogenesis PP secara umum terdiri dari 3 tahapan, yaitu: tahap pertama ditandai dengan ekspresi VCAM-1⁺ dan ICAM-1⁺ pada 15,5 hari *postcoitus*, tahap kedua ditandai dengan akumulasi IL-7R⁺ dan atau CD4⁺ pada 17,5 hari *postcoitus*, dan tahap ketiga adalah formasi limfosit yang mengekspresikan CD3 dan B220 pada 18,5 hari *postcoitus* (Adachi *et al.*, 1997). Dari serangkaian proses hematopoetik, IL-7Rα⁺ merupakan sel yang terpenting dalam organogenesis PP. Maka dari itu injeksi anti- IL-7Rα dapat menghambat perkembangan PP pada mencit yang bunting (Honda *et al.*, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa mencit dengan defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS memiliki derajat penyakit kolitis yang lebih berat, luas ulserasi yang lebih luas, panjang kolon yang lebih pendek, dan penurunan berat badan yang lebih tinggi. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN sehingga terjadi kegagalan toleransi yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Patogenesis terjadinya IBD berhubungan dengan disregulasi respon imun terhadap antigen bakteri yang normal terdapat dalam usus. Akibat aktivasi sistem imun yang tidak terkontrol ini terjadi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan stabilitas membran seluler dan kematian sel, yang akhirnya akan memperburuk inflamasi itu sendiri. Oleh karena itu pada inflamasi

kronik didapatkan ketidakseimbangan mekanisme prooksidan dan antioksidan. Banyak penelitian menyebutkan bahwa pemberian antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam mengatasi kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006).

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian 0,1 mL minyak buah merah setiap hari selama 3 minggu ternyata selain dapat menurunkan derajat *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian buah merah dengan dosis 0,1 mL selama 48 hari terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal (Khiong *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal-hal di atas maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh Buah Merah dalam memodulasi respon imun mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.5.2 Hipotesis

Buah merah mengurangi derajat diare pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Buah merah mengurangi derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL). *Clinical score* diukur berdasarkan penurunan diare dan pendarahan rektum. Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan akan dilanjutkan bila diperoleh hasil yang bermakna dengan Mann Withney-U dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulcerative Colitis (UC) adalah penyakit yang termasuk *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), bersamaan dengan *Crohn's disease* (CD). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan suatu keadaan inflamasi kronik akibat kelainan regulasi sistem imun mukosa yang disebabkan oleh kerentanan genetik, rangsangan flora usus normal, dan disfungsi barier sel epitel (Kumar *et al.*, 2010). IBD mengenai 1,4 juta orang Amerika dengan onset usia 15-30 tahun (Abraham *et al.*, 2009).

Komplikasi jangka panjang yang sangat tidak diinginkan pada IBD adalah perkembangan menjadi neoplasia, terutama pada UC yang mengenai seluruh kolon selama 10 tahun atau lebih (Papivanova *et al.*, 2008). Meskipun insidensi IBD untuk daerah Asia kecil, namun angka ini telah mengalami kenaikan secara global (Kumar *et al.*, 2010).

Pemberian DSS secara oral pada mencit telah dilaporkan dapat menginduksi kolitis akut dan kronik (Dieleman *et al.*, 1998). Gejala dan histopatologis kolon mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS lebih menyerupai UC pada manusia, dibandingkan dengan kolitis yang diinduksi oleh zat kimiawi lain, dimana hal ini telah menjadi alat penelitian bagi patogenesis UC dan perkembangan obat-obatan baru (Zheng *et al.*, 2005).

Pemberian 3-5 siklus DSS 3% (w/v) secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada tikus (Okayasu *et al.*, 2002). Ini membuktikan bahwa hanya dengan respon inflamasi saja dapat menyebabkan terjadinya karsinoma kolon. Selain pemberian DSS, *Azoxymehane* (AOM) juga sering digunakan dalam menginduksi tumor pada kolon distal. Penelitian membuktikan bahwa aktivasi NF- κ B dan TNF- α mengambil peranan yang penting dalam perkembangan kolitis menjadi keganasan (Papivanova *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab terjadinya IBD adalah hilangnya toleransi terhadap mikroba yang normal terdapat dalam usus dan aktivasi sistem imunologi pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterik (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP memiliki lymphoepithelium yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Mencit dengan defisien PP yang diinduksi kolitis dengan DSS menunjukkan derajat penyakit kolitis yang lebih berat daripada mencit normal yang diinduksi dengan DSS. Mencit yang defisien PP bila diinduksi kolitis dengan DSS akan menunjukkan derajat *clinical score* yang lebih parah. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Dalam banyak penelitian dilaporkan bahwa antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006). Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Masyarakat Papua memanfaatkan buah merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan ternyata memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan. Testimoni mengenai khasiat buah merah secara empiris sebagai pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, dan infeksi telah banyak dilaporkan, namun penelitian baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Merah sebanyak 0,1 mL/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* (Hana *et al.*, 2008). Pemberian 0,1 mL ekstrak Buah Merah setiap hari selama 3 minggu selain dapat

menurunkan derajat keparahan penyakit yang ditandai dengan menurunnya *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008).

Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui apakah Buah Merah dapat mengurangi *clinical score* pada mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS, dengan mengamati derajat diare dan derajat perdarahan rektum.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah minyak Buah Merah mengurangi derajat diare dan perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam memodulasi sistem imun pada mencit defisiensi PP.

Tujuan penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam mengurangi derajat diare dan derajat perdarahan rektum yang diukur dari penurunan derajat diare dan derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat akademis adalah memperluas wawasan pembaca mengenai tanaman obat asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

Manfaat praktis adalah untuk mengeksplorasi potensi buah merah dengan menilai derajat keparahan/*clinical score* pada perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Ulcerative Colitis (UC) merupakan manifestasi kerusakan DNA dengan keadaan sel mukosa yang tidak stabil. Kejadian yang berulang akan mengarah ke perburukan dan menyebabkan displasia epitel dan dapat berkembang menjadi kanker. UC menunjukkan gejala diare dengan darah yang terkadang berlangsung berbulan-bulan. UC yang mengenai seluruh bagian kolon selama lebih dari 10 tahun merupakan predisposisi terjadi kanker kolon. Risiko terjadinya kanker 20-30 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol populasi. Insidensi UC di Amerika mencapai 4-12 / 100.000 jiwa dan mengalami peningkatan pada dekade terakhir. Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mencegah kanker pada pasien UC (Papivanova *et al.*, 2008).

Pemberian DSS secara oral pada mencit sudah banyak digunakan untuk merekapitulasi UC pada manusia, karena pemberian DSS ini menyebabkan reaksi inflamasi akut dan ulserasi pada seluruh bagian kolon yang juga ditemukan pada pasien UC. Dengan hanya pemberian 3-5 siklus DSS 3% secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada mencit (Okayasu *et al.*, 2002). Ini menunjukkan bahwa suatu respon inflamasi dapat menyebabkan kanker kolon. Pemberian *Azoxymethane* (AOM) juga sering digunakan untuk menginduksi tumor pada kolon distal mencit bersamaan dengan pemberian DSS (Papivanova *et al.*, 2008).

Mekanisme terjadinya kolitis pada mencit yang diinduksi DSS masih belum sepenuhnya diketahui. Diduga bahwa DSS merusak sel epitel kolon secara langsung dan menyebabkan gangguan pada barrier epitel kolon sehingga monosit-makrofag pada lamina propria dapat teraktivasi dan makrofag akan mempresentasikan peptida asing kepada sel T dan kemudian akan disekresikan sitokin proinflamasi. Penelitian juga menunjukkan bahwa limfosit memainkan

peranan penting pada kolitis yang diinduksi DSS, namun mekanisme pastinya masih belum sepenuhnya terungkap (Kim *et al.*, 2006).

IBD berasosiasi dengan menurunnya toleransi terhadap flora normal intestinal dan terjadi aktivasi imun pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterikus (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP merupakan folikel limfoid pada dinding intestinal yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Organogenesis PP secara umum terdiri dari 3 tahapan, yaitu: tahap pertama ditandai dengan ekspresi VCAM-1⁺ dan ICAM-1⁺ pada 15,5 hari *postcoitus*, tahap kedua ditandai dengan akumulasi IL-7R⁺ dan atau CD4⁺ pada 17,5 hari *postcoitus*, dan tahap ketiga adalah formasi limfosit yang mengekspresikan CD3 dan B220 pada 18,5 hari *postcoitus* (Adachi *et al.*, 1997). Dari serangkaian proses hematopoetik, IL-7R⁺ merupakan sel yang terpenting dalam organogenesis PP. Maka dari itu injeksi anti- IL-7R α dapat menghambat perkembangan PP pada mencit yang bunting (Honda *et al.*, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa mencit dengan defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS memiliki derajat penyakit kolitis yang lebih berat, luas ulserasi yang lebih luas, panjang kolon yang lebih pendek, dan penurunan berat badan yang lebih tinggi. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN sehingga terjadi kegagalan toleransi yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Patogenesis terjadinya IBD berhubungan dengan disregulasi respon imun terhadap antigen bakteri yang normal terdapat dalam usus. Akibat aktivasi sistem imun yang tidak terkontrol ini terjadi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan stabilitas membran seluler dan kematian sel, yang akhirnya akan memperburuk inflamasi itu sendiri. Oleh karena itu pada inflamasi

kronik didapatkan ketidakseimbangan mekanisme prooksidan dan antioksidan. Banyak penelitian menyebutkan bahwa pemberian antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam mengatasi kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006).

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian 0,1 mL minyak buah merah setiap hari selama 3 minggu ternyata selain dapat menurunkan derajat *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian buah merah dengan dosis 0,1 mL selama 48 hari terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal (Khiong *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal-hal di atas maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh Buah Merah dalam memodulasi respon imun mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.5.2 Hipotesis

Buah merah mengurangi derajat diare pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Buah merah mengurangi derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL). *Clinical score* diukur berdasarkan penurunan diare dan pendarahan rektum. Analisis statistik dengan menggunakan uji Krukall Wallis dan akan dilanjutkan bila diperoleh hasil yang bermakna dengan Mann Withney-U dengan tingkat kepercayaan 95%.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ulcerative Colitis (UC) adalah penyakit yang termasuk *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), bersamaan dengan *Crohn's disease* (CD). *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) merupakan suatu keadaan inflamasi kronik akibat kelainan regulasi sistem imun mukosa yang disebabkan oleh kerentanan genetik, rangsangan flora usus normal, dan disfungsi barier sel epitel (Kumar *et al.*, 2010). IBD mengenai 1,4 juta orang Amerika dengan onset usia 15-30 tahun (Abraham *et al.*, 2009).

Komplikasi jangka panjang yang sangat tidak diinginkan pada IBD adalah perkembangan menjadi neoplasia, terutama pada UC yang mengenai seluruh kolon selama 10 tahun atau lebih (Papivanova *et al.*, 2008). Meskipun insidensi IBD untuk daerah Asia kecil, namun angka ini telah mengalami kenaikan secara global (Kumar *et al.*, 2010).

Pemberian DSS secara oral pada mencit telah dilaporkan dapat menginduksi kolitis akut dan kronik (Dieleman *et al.*, 1998). Gejala dan histopatologis kolon mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS lebih menyerupai UC pada manusia, dibandingkan dengan kolitis yang diinduksi oleh zat kimiawi lain, dimana hal ini telah menjadi alat penelitian bagi patogenesis UC dan perkembangan obat-obatan baru (Zheng *et al.*, 2005).

Pemberian 3-5 siklus DSS 3% (w/v) secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada tikus (Okayasu *et al.*, 2002). Ini membuktikan bahwa hanya dengan respon inflamasi saja dapat menyebabkan terjadinya karsinoma kolon. Selain pemberian DSS, *Azoxymehane* (AOM) juga sering digunakan dalam menginduksi tumor pada kolon distal. Penelitian membuktikan bahwa aktivasi NF- κ B dan TNF- α mengambil peranan yang penting dalam perkembangan kolitis menjadi keganasan (Papivanova *et al.*, 2008).

Salah satu penyebab terjadinya IBD adalah hilangnya toleransi terhadap mikroba yang normal terdapat dalam usus dan aktivasi sistem imunologi pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterik (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP memiliki lymphoepithelium yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Mencit dengan defisien PP yang diinduksi kolitis dengan DSS menunjukkan derajat penyakit kolitis yang lebih berat daripada mencit normal yang diinduksi dengan DSS. Mencit yang defisien PP bila diinduksi kolitis dengan DSS akan menunjukkan derajat *clinical score* yang lebih parah. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Dalam banyak penelitian dilaporkan bahwa antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006). Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Masyarakat Papua memanfaatkan buah merah sebagai sumber pangan sehari-hari dan ternyata memiliki kondisi kesehatan yang lebih baik dibandingkan wilayah lainnya. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan. Testimoni mengenai khasiat buah merah secara empiris sebagai pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, dan infeksi telah banyak dilaporkan, namun penelitian baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* belum banyak dilakukan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Merah sebanyak 0,1 mL/hari selama 15 hari menyebabkan peningkatan proliferasi limfosit mencit yang diinokulasi *Listeria monocytogenes* (Hana *et al.*, 2008). Pemberian 0,1 mL ekstrak Buah Merah setiap hari selama 3 minggu selain dapat

menurunkan derajat keparahan penyakit yang ditandai dengan menurunnya *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008).

Berdasarkan hal-hal yang telah disebutkan di atas perlu dilakukan penelitian sebagai upaya untuk mengetahui apakah Buah Merah dapat mengurangi *clinical score* pada mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS, dengan mengamati derajat diare dan derajat perdarahan rektum.

1.2 Identifikasi Masalah

Apakah minyak Buah Merah mengurangi derajat diare dan perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.3 Maksud dan Tujuan

Maksud penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam memodulasi sistem imun pada mencit defisiensi PP.

Tujuan penelitian adalah untuk melihat peranan Buah Merah dalam mengurangi derajat diare dan derajat perdarahan rektum yang diukur dari penurunan derajat diare dan derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat akademis adalah memperluas wawasan pembaca mengenai tanaman obat asli Indonesia, khususnya buah merah dalam menghambat perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

Manfaat praktis adalah untuk mengeksplorasi potensi buah merah dengan menilai derajat keparahan/*clinical score* pada perkembangan kolitis mencit yang defisiensi PP.

1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

1.5.1 Kerangka Pemikiran

Ulcerative Colitis (UC) merupakan manifestasi kerusakan DNA dengan keadaan sel mukosa yang tidak stabil. Kejadian yang berulang akan mengarah ke perburukan dan menyebabkan displasia epitel dan dapat berkembang menjadi kanker. UC menunjukkan gejala diare dengan darah yang terkadang berlangsung berbulan-bulan. UC yang mengenai seluruh bagian kolon selama lebih dari 10 tahun merupakan predisposisi terjadi kanker kolon. Risiko terjadinya kanker 20-30 kali lipat lebih tinggi dibandingkan kontrol populasi. Insidensi UC di Amerika mencapai 4-12 / 100.000 jiwa dan mengalami peningkatan pada dekade terakhir. Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui dan mencegah kanker pada pasien UC (Papivanova *et al.*, 2008).

Pemberian DSS secara oral pada mencit sudah banyak digunakan untuk merekapitulasi UC pada manusia, karena pemberian DSS ini menyebabkan reaksi inflamasi akut dan ulserasi pada seluruh bagian kolon yang juga ditemukan pada pasien UC. Dengan hanya pemberian 3-5 siklus DSS 3% secara oral selama 7 hari dan diikuti pemberian air distilasi selama 14 hari juga terbukti dapat menyebabkan karsinoma kolon pada mencit (Okayasu *et al.*, 2002). Ini menunjukkan bahwa suatu respon inflamasi dapat menyebabkan kanker kolon. Pemberian *Azoxymethane* (AOM) juga sering digunakan untuk menginduksi tumor pada kolon distal mencit bersamaan dengan pemberian DSS (Papivanova *et al.*, 2008).

Mekanisme terjadinya kolitis pada mencit yang diinduksi DSS masih belum sepenuhnya diketahui. Diduga bahwa DSS merusak sel epitel kolon secara langsung dan menyebabkan gangguan pada barrier epitel kolon sehingga monosit-makrofag pada lamina propria dapat teraktivasi dan makrofag akan mempresentasikan peptida asing kepada sel T dan kemudian akan disekresikan sitokin proinflamasi. Penelitian juga menunjukkan bahwa limfosit memainkan

peranan penting pada kolitis yang diinduksi DSS, namun mekanisme pastinya masih belum sepenuhnya terungkap (Kim *et al.*, 2006).

IBD berasosiasi dengan menurunnya toleransi terhadap flora normal intestinal dan terjadi aktivasi imun pada *gut-associated lymphoreticular tissues* (GALT). GALT terdiri dari *Plaque peyeri* (*Peyer's Patches* / PP) dan nodus limfatikus mesenterikus (*Mesenteric Lymph Nodes* / MLN). PP merupakan folikel limfoid pada dinding intestinal yang mengandung sel M untuk inisiasi respon imun terhadap IgA antigen spesifik, yang kemudian akan menginduksi mukosa untuk mensekresikan IgA antibodi (Spahn *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Mc Ghee *et al.*, 2005).

Organogenesis PP secara umum terdiri dari 3 tahapan, yaitu: tahap pertama ditandai dengan ekspresi VCAM-1⁺ dan ICAM-1⁺ pada 15,5 hari *postcoitus*, tahap kedua ditandai dengan akumulasi IL-7R⁺ dan atau CD4⁺ pada 17,5 hari *postcoitus*, dan tahap ketiga adalah formasi limfosit yang mengekspresikan CD3 dan B220 pada 18,5 hari *postcoitus* (Adachi *et al.*, 1997). Dari serangkaian proses hematopoetik, IL-7Rα⁺ merupakan sel yang terpenting dalam organogenesis PP. Maka dari itu injeksi anti- IL-7Rα dapat menghambat perkembangan PP pada mencit yang bunting (Honda *et al.*, 2001).

Penelitian menunjukkan bahwa mencit dengan defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS memiliki derajat penyakit kolitis yang lebih berat, luas ulserasi yang lebih luas, panjang kolon yang lebih pendek, dan penurunan berat badan yang lebih tinggi. Diduga bahwa derajat keparahan kolitis ini disebabkan oleh hilangnya PP dan MLN sehingga terjadi kegagalan toleransi yang mungkin berhubungan dengan hilangnya sel-sel regulator normal seperti sel dendritik yang ada dalam usus (Spahn *et al.*, 2002).

Patogenesis terjadinya IBD berhubungan dengan disregulasi respon imun terhadap antigen bakteri yang normal terdapat dalam usus. Akibat aktivasi sistem imun yang tidak terkontrol ini terjadi produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan. ROS yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan stabilitas membran seluler dan kematian sel, yang akhirnya akan memperburuk inflamasi itu sendiri. Oleh karena itu pada inflamasi

kronik didapatkan ketidakseimbangan mekanisme prooksidan dan antioksidan. Banyak penelitian menyebutkan bahwa pemberian antioksidan menunjukkan efek yang menguntungkan dalam mengatasi kolitis eksperimental (Harputluoğlu *et al.*, 2006).

Salah satu sumber senyawa antioksidan eksogen adalah buah merah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Papua dalam kehidupan sehari-hari. Buah merah mengandung banyak zat berkhasiat alami antara lain karotenoid, beta-karoten, alfa-tokoferol, asam linoleat dan dekanolat, omega-3 dan omega-9 yang dapat berperan sebagai senyawa antioksidan (I Made Budi, 2005).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian 0,1 mL minyak buah merah setiap hari selama 3 minggu ternyata selain dapat menurunkan derajat *clinical score colitis* juga dapat meningkatkan proliferasi limfosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS (Khiong *et al.*, 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bahwa pemberian buah merah dengan dosis 0,1 mL selama 48 hari terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 pada mencit yang diinduksi kanker kolorektal (Khiong *et al.*, 2010).

Berdasarkan hal-hal di atas maka penelitian ini dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai pengaruh Buah Merah dalam memodulasi respon imun mencit defisien terhadap PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.5.2 Hipotesis

Buah merah mengurangi derajat diare pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Buah merah mengurangi derajat perdarahan rektum pada mencit defisiensi PP yang diinduksi kolitis dengan DSS.

1.6 Metode Penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah prospektif eksperimental laboratorium sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap

(RAL). *Clinical score* diukur berdasarkan penurunan diare dan pendarahan rektum. Analisis statistik dengan menggunakan uji Kruskal Wallis dan akan dilanjutkan bila diperoleh hasil yang bermakna dengan Mann Withney-U dengan tingkat kepercayaan 95%.