

Efek Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) terhadap Struktur Histologi Rektum Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS)

The Effect of Ethanol Extract Turmeric Rhizome (Curcuma Longa) to Histological Structure of Rat Rectum Induced Dextran Sodium Sulphate (DSS)

Lidia Maziyyatun Nikmah, Susantin Fajariyah, Mahriani*)

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember

*E-mail: yani_hendro@yahoo.com

ABSTRACT

Turmeric (*Curcuma longa*) is a plant that people use as a traditional medicine to treat some diseases such as: anti-inflammatory, antidiarrhea, antioxidants, hepatoprotector, and others. One of the main chemical compounds contained in turmeric and has a role as anti-inflammatory is curcumin. This study was conducted to determine the effect of ethanol extract of turmeric rhizome (*Curcuma longa*) on the histological structure of rat rectum induced by *Dextran Sodium Sulphate* (DSS). Wistar strain rats was divided into three groups: negative control group, positive control group (1% DSS), and DSS treatment group 1% + ethanol extract of turmeric rhizome dose 200mg/KgBB. DSS is given *ad libitum*, while ethanol extract of turmeric rhizome is given orally. We used paraffin method and Haematoxylin Eosin staining to make the preparation organ. The data were analyzed using *One Way ANOVA* test, *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) test, and correlation test. The result of this study is DSS administration has an effect on decreasing average of crypt, number of Goblet cell, and depletion of rectal mucous layer. While treatment of extract turmeric rhizome can increase height of crypt and number of Goblet cell in rectal mucosal layer of rat.

Keywords: Extract of turmeric rhizome, DSS, rectum, *Rattus norvegicus*

PENDAHULUAN

Kunyit (*Curcuma longa*) merupakan tanaman yang digunakan masyarakat sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan beberapa penyakit dan berperan sebagai antioksidan (Ruby *et al.*, 1995), dan antiinflamasi (Bastaki *et al.*, 2016). Kurkumin merupakan senyawa kimia utama dalam kunyit yang dapat diperoleh dari hasil ekstraksi rimpang kunyit (Araujo & Leon, 2001). Kurkumin merupakan zat pemberi warna kuning pada kunyit yang juga berfungsi sebagai anti inflamasi, antioksidan, hepatoprotektif, dan antikanker (Krup *et al.*, 2013).

Inflamasi atau peradangan tidak hanya menyerang bagian luar tubuh, namun juga dapat menyerang organ dalam tubuh misalnya organ saluran pencernaan seperti kolon dan rektum. Inflamasi pada saluran pencernaan disebut juga dengan *Inflammatory Bowel Disease* (IBD). Inflamasi dari IBD yang menyerang saluran pencernaan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu: faktor genetik, lingkungan, dan imunotoksik. *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) terbagi menjadi 2 yaitu: Kolitis Ulseratif (KU) dan Chron's Disease (CD) (Sugiarto, 2016). Kolitis

ulseratif merupakan penyakit inflamasi kronik yang menyerang mukosa usus besar manusia. Secara histologi, kolitis ulseratif ditandai dengan adanya inflamasi pada mukosa dan submukosa kolon, pemendekan kriptas, infiltrasi sel inflamasi pada lamina propria, dan berkurangnya produksi musin (Sugiarto, 2016), (Yan *et al.*, 2009). Kolitis ulseratif menyebabkan inflamasi pada kolon dan dapat berkembang menjadi kanker kolon (Propivanova *et al.*, 2008). Kanker kolon ditandai dengan polip pada lapisan mukosa kolon yang berkembang menembus dinding kolon dan kelenjar getah bening (Alteri *et al.*, 2014).

Model induksi kolitis pada tikus dapat dilakukan dengan pemberian *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) (Yan *et al.*, 2009). Pemberian DSS pada tikus menyebabkan kolitis yang hampir sama dengan kolitis ulseratif pada manusia (Gaudio *et al.*, 1999). Pemberian DSS sebanyak 3% secara *ad libitum* selama tujuh hari pada distal kolon tikus menunjukkan kerusakan epitel, kerusakan kriptas, berkurangnya sel Goblet dan infiltrasi sel inflamasi (Rayudu & Raju, 2014).

Rektum merupakan organ lanjutan dari kolon (Standring, 2008). Kolitis ulseratif dimulai dari rektum dan menyebar ke arah proksimal kolon (Geboes, 2003). Pemberian kunyit diduga dapat menurunkan efek inflamasi yang disebabkan oleh DSS. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian untuk mengetahui efek ekstrak rimpang kunyit sebagai antiinflamasi pada mukosa rektum tikus putih Strain Wistar yang diinduksi dengan DSS.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Zoologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember, pada bulan Februari 2017 sampai dengan bulan April 2017.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: kandang metabolik, wadah penampung urin, wadah penampung pakan tikus dan botol minum tikus, jarum sonde tikus, kamera digital, *beaker glass* 600 ml (Duran), botol *scott* 100 ml (Duran), botol *scott* 1000 ml (Duran), corong plastik kecil, spatula, cawan porselen, saringan tepung, *rotary evaporator*, *waterbath*, baki *stainless steel*, baki plastik, pisau, talenan, sendok plastik dan sendok *stainless steel*, kain saring, cup ekstrak kecil, timbangan analitik (Ohaus), cawan petri, silet, botol reagen, mikrotom, mikroskop (Olympus), *OptiLab*, *staining jar*, scalpel, *hot plate*, botol falkon, oven (*incucell*), dan bunsen.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: hewan uji berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar umur dua bulan dengan berat badan ± 200 gram sebanyak 6 ekor yang diperoleh dari LPPT4 Yogyakarta, pakan pelet broiler (BR1 plus), aquadest, *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) merek Sigma Aldrich, rimpang kunyit yang dibeli dari pasar Tanjung Jember, kertas saring, gelas penutup, gelas objek, etanol 70%, larutan PBS (*Phospat Buffer Saline*) formalin 10%, NaCl 0,9%, alkohol bertingkat, alkohol absolut, parafin, gliserin, albumin, xylol, entelan, dan pewarna HE (Haematoxylin Eosin).

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pada penelitian ini digunakan 6 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina umur dua bulan dengan berat badan ± 200 gram. Hewan uji diberikan perlakuan DSS 1% secara *ad libitum* dan ekstrak etanol rimpang kunyit 200 mg/KgBB secara oral. Pemberian DSS dilakukan selama tiga hari yaitu hari pertama sampai hari ketiga, kemudian dilanjutkan dengan pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit selama tiga hari yaitu pada hari keempat sampai hari keenam. Perlakuan yang diberikan dibagi menjadi tiga kelompok dan

dilakukan dua kali pengulangan pada setiap individu kelompok dengan pemberian dosis sebagai berikut:

- Kelompok 1: Kontrol negatif (tanpa perlakuan / tanpa pemberian DSS 1% dan tanpa pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit).
- Kelompok 2: Kontrol positif (pemberian DSS 1% dan tanpa pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit).
- Kelompok 3: Perlakuan dosis (pemberian DSS 1% dan ekstrak etanol rimpang kunyit 200mg/KgBB).

Pembuatan Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit

Rimpang kunyit dicuci bersih dengan air kemudian ditiriskan. Setelah itu diiris tipis dan dioven pada suhu 50°C, selanjutnya digiling dan diayak hingga diperoleh serbuk simplisia. Serbuk simplisia dimaserasi dengan etanol 70% selama 2x24 jam. Perbandingan simplisia rimpang kunyit dengan etanol adalah 1:10. Hasil maserasi disaring dan dimasukkan ke dalam *rotary evaporator* dengan suhu 80°C sampai diperoleh filtrat rimpang kunyit. Setelah itu dimasukkan dalam *waterbath* untuk menghilangkan kandungan etanol dan air (Maharani & Bachri, 2015).

Pembuatan Preparat Histologi Rektum

Pengambilan organ rektum dilakukan sebelum pembuatan preparat histologi rektum ketiga kelompok perlakuan pada hari ke tujuh. Pembuatan preparat histologi dilakukan dengan tahapan (Suntoro, 1983): (a) Fiksasi, Dehidrasi dan *Clearing*, (b) *Infiltrasi* dan *Embedding* (penanaman), (c) *Penyayatan* (*Sectioning*) dan perekatan (*Affixing*), (d) Pewarnaan (*Staining*) menggunakan Haematoxylin dan Eosin, (e) *Penutupan* (*Mounting*) dan Pengamatan menggunakan mikroskop *OptiLab*.

Parameter Penelitian

Pengamatan histologi rektum pada penelitian ini meliputi pengukuran terhadap tinggi kripta, dan penghitungan jumlah sel Goblet.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 99% atau $\alpha = 0,01$, dilanjutkan dengan Uji *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) untuk melihat beda nyata antar kelompok perlakuan dosis. Selanjutnya dilakukan uji korelasi untuk mengetahui korelasi antar parameter yang diuji (Steel & Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit dan DSS Terhadap Rata-rata Tinggi Kripta dan Jumlah Sel Goblet Mukosa Rektum Tikus

Pengamatan tinggi kripta dan jumlah sel Goblet dilakukan pada histologi lapisan mukosa rektum tikus kelompok kontrol negatif, kontrol

positif, dan perlakuan. Hasil pengukuran dan penghitungan rata-rata tinggi kriptas dan jumlah sel Goblet pada mukosa rektum tikus putih betina Strain Wistar yang diberi ekstrak kunyit setelah pemberian DSS dapat dilihat pada Tabel 1.

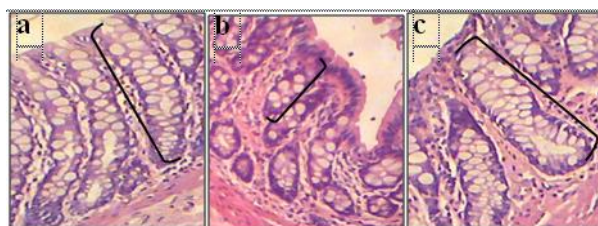
Berdasarkan analisis *One Way Anova* diperoleh nilai signifikansi $p=0,000 < 0,01$ yang menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol rimpang kunyit berpengaruh terhadap

rata-rata tinggi kriptas dan rata-rata jumlah sel Goblet mukosa rektum tikus putih yang diinduksi DSS. Hal ini didukung dengan hasil uji *Duncan* yang menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok perlakuan. Pada hasil uji korelasi ekstrak etanol rimpang kunyit terhadap rata-rata tinggi kriptas dan jumlah sel Goblet memiliki nilai signifikansi $0,00 < 0,01$ yang menunjukkan adanya korelasi antara rata-rata tinggi kriptas dengan jumlah sel Goblet.

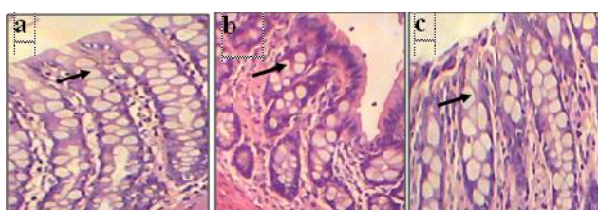
Tabel 1. Rata-rata tinggi kriptas dan jumlah sel Goblet mukosa rektum tikus putih betina Strain Wistar yang diberi ekstrak etanol rimpang kunyit pasca pemberian DSS

Perlakuan	Rata-rata tinggi kriptas ($\bar{x} \pm SD$)	Rata-rata jumlah sel Goblet ($\bar{x} \pm SD$)
Kontrol Negatif	188,46 ± 7,98 ^a	29,73 ± 3,31 ^a
Kontrol Positif (DSS 1%)	68,36 ± 8,14 ^b	9,07 ± 2,28 ^b
DSS1%+ekstrak rimpang kunyit 200mg/KgBB	143,29 ± 19,68 ^c	15,28 ± 4,62 ^c

Angka yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan antar perlakuan.



Gambar 1. Penampang melintang rektum tikus setelah pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit selama 3 hari dengan pewarnaan HE, perbesaran 100x. Gambar garis hitam menunjukkan tinggi kriptas pada mukosa rektum tikus. (a) kontrol negatif; (b) kontrol positif (DSS 1%); (c) perlakuan dosis (DSS 1% dan ekstrak etanol rimpang kunyit 200mg/KgBB).



Gambar 2. Penampang melintang rektum tikus setelah pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit selama 3 hari dengan pewarnaan HE, perbesaran 400x. Gambar panah menunjukkan sel Goblet pada mukosa rektum tikus. (a) kontrol negatif; (b) kontrol positif (DSS 1%); (c) perlakuan dosis (DSS 1% dan ekstrak etanol rimpang kunyit 200mg/KgBB).

Rata-rata tinggi kriptas pada kelompok perlakuan kontrol positif mengalami pemendekan. Pemberian DSS menyebabkan terjadinya pemendekan kriptas pada lapisan mukosa kolon (Islam *et al.*, 2008). Pada hari ketiga setelah pemberian DSS 5% selama 2-6 hari secara *ad libitum* akan menyebabkan terjadinya pemendekan kriptas pada mukosa kolon tikus (Breider *et al.*, 1997). Sedangkan

pemberian ekstrak kunyit diketahui mampu memperbaiki tinggi kriptas rektum setelah induksi DSS. Gambaran histologi tinggi kriptas terdapat pada Gambar 1.

Rata-rata jumlah sel Goblet mengalami penurunan setelah pemberian DSS. hal tersebut disebabkan karena pemberian DSS pada tikus dapat menyebabkan terjadinya penurunan jumlah sel Goblet pada kriptas mukosa kolon

(Breider *et al.*, 1997), (Islam *et al.*, 2008), (Oliveira *et al.*, 2014), (Rayudu & Raju, 2014). Pada lapisan mukosa rektum, terdapat kript Lieberkuhn yang mirip dengan kript pada kolon (Gartner & Hiatt, 2007). Pada kript Lieberkuhn rektum terdapat sel Goblet yang berfungsi menghasilkan musin. Musin yang dihasilkan oleh sel Goblet berperan sebagai pelindung lumen pada saluran pencernaan (Rizkiantino, 2015; Johansson *et al.*, 2013) sedangkan pemberian ekstrak kunyit dengan dosis 200mg/KgBB setelah pemberian DSS berpengaruh terhadap rata-rata jumlah sel Goblet pada kript rektum. Hal ini diduga karena kandungan kurkumin pada kunyit menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah sel Goblet pada kript tikus yang diberi DSS. Kurkumin yang terkandung dalam kunyit berperan sebagai antiinflamasi dengan meningkatkan jumlah sel Goblet pada kript kolon. Peran antiinflamasi kunyit dengan cara menghambat produksi COX-2 (Barquero *et al.*, 2007). Gambaran histologi sel Goblet dapat dilihat pada Gambar 2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa pemberian DSS berpengaruh terhadap penurunan rata-rata tinggi kript, jumlah sel Goblet dan penipisan lapisan mukosa rektum tikus. Sedangkan perlakuan Ekstrak etanol rimpang kunyit 200mg/KgBB dapat meningkatkan tinggi kript dan jumlah sel Goblet mukosa rektum tikus.

DAFTAR PUSTAKA

- Alteri RB, Durado G, Ted H, Annemarie J, Eric K, Debbie K, Joan L, Bernard M, Cathy M, Marji P, Anthony S, Mona S, Scott S, Robert T, Brian W, Dana W & Gregg. 2014. *Colorectal Cancer Facts & Figure 2014-2016*. Atlanta: American Cancer Society.
- Araujo CAC, & Leon LL. 2001. Biological Activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. **96**(5):723-728.
- Bastaki SMA, Mohammed MAA, Ahmed AZ, Naheed A & Ernest A. 2016. Effect of Turmeric on Colon Histology, Body Weight, Ulcer, IL-23, MPO and Glutathione in Acetic-Acid-Induced Inflammatory Bowel Disease in Rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **16**:72.
- Barquero LC, Villegas I, Calvo JMS, Talero E, Fidalgo SS, Motilva V & Lastra CA. 2007. Curcumin, a *Curcuma longa* Constituent, Acts on MAPK p38 Pathway Modulating COX-2 and iNOS Expression in Chronic Experimental Colitis. *Int. Immunopharmacol*. **7**:333-342.
- Breider MA, Eppinger M & Gough A. 1997. Intercellular Adhesion Molecul-1 Expression in *Dextran Sodium Sulfate* Induced Colitis in Rats. *Vet Pathol*. **34**:598-604.
- Gaudio E, Taddei G, Vetuschi A, Sferra R, Frieri G, Ricciardi G & Caprilli R. 1999. *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) Colitis in Rats. *Digestive Disease and Science*. **44**(7):1-18.
- Gartner LP & Hiatt JL. 2007. *Buku Ajar Berwarna Histologi Edisi Ketiga*. Jakarta: Saunders Elsevier.
- Geboes K. 2003. Histopathology of Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *IBD*. **18**:255-276.
- Islam MS, Muratta T, Fujisawa M, Nagasaka R, Ushio H, Bari AM, Hori M & Ozaki H. 2008. Antiinflammatory Effects of Phytosteryl Ferulates in Colitis Induced by *Dextran Sulphate Sodium* in Mice. *British Journal of Pharmacology*. **154**: 812-824.
- Johansson MEV, Sjoval H & Hansson GC. 2013. The Gastrointestinal Mucus System in Health and Disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. **10**(6): 352-361.
- Krup V, Prakash HL & Harini A. 2013. Pharmacological Activities of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.): A Review. *J Homeop Ayurv Med*. **2**(4).
- Maharani HW & Bachri MS. 2015. Efek Pemberian Subkronis Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) pada Tikus. *Journal Farmasi*. **12**(2): 213-224.
- Oliveira LGD, Andre LDC, Amauri CD, Maria CMNC, Julio MFC & Jair AKKDA. 2014. Positive Correlation Between Disease Activity Index And Matrix Metalloproteinases Activity In A Rat Model of Colitis. *Arq Gastroenterol*. **51**(2).
- Propivanova BK, Kazuya K, Yu W, Toshikazu K, Takashi K, Shiuchi K, Masanobo O, Chifumi F & Naofumi M. 2008. Blocking TNF- in Mice Reduces Colorectal Carcinogenesis Associated With Chronic Colitis. *The Journal of Clinical Inflammation*. **118**(2).

- Rayudu V & Raju AB. 2014. *Effect of Triptala on Dextran Sulphate Sodium Induced Colitis in Rats*.35:33.
- Rizkiantino R. 2015. *Studi Morfologi Usus Musang Luak*. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor.
- Ruby AJ, Kuttan G, Babu KD, Rajasekharan KR & Kuttan R. 1995. Antitumour and Antioxydant Activity of Natural Curcuminoids. *Cancer Letters*.**94**: 79-83.
- Standring S. 2008. *Gray's Anatomy Fortieth Edition: The Anatomical Basis of Clinical Practice*. Edinburgh: Churchill Livingstone Elsevier.
- Steel RGD & Torrie JH. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika (Pendekatan Biometrik) Penerjemah B. Sumantri*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sugiarto. 2016. Hubungan Inflammatory Bowel Disease dengan Kanker Kolorektal. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan, Edisi Suplemen*.61-74.
- Suntoro SH. 1983. *Metode Pewarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Yan Y, Kolachala V, Dalmaso G, Nguyen H & Laroui H. 2009. Temporal and Spatial Analysis of Clinical and Molecular Parameters in *Dextran Sodium Sulfate Induced Colitis*. *PLoS One*.**4**(6):1-8.

