

Pengaruh ekstrak jahe terhadap perbaikan kerusakan mukosa *ileum* tikus yang terpapar 5-fluorourasil

Effect of ginger extract on reparation of mucosal damage in ileal rats exposed by 5-fluorouracil

KHUSNUL DWI TYASARI, KIYATNO, BALGIS

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret. Jl. Ir. Sutami 36a, Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 16 Agustus 2015. Revisi disetujui: 5 Desember 2015.

Abstract. Tyasari KD, Kiyatno, Balgis. 2016. *Effect of ginger extract on reparation of mucosal damage in ileal rats exposed by 5-fluorouracil.* Biofarmasi 14: 24-31. This research had an objective to know the effect of ginger extract giving toward reparation of mucosal damage in ileal rats exposure by 5-fluorouracil. This research was a pure experiment with post test only control group design. We used 28 male Wistar Rats that were divided into 4 groups; control group, 5-FU group, 5-FU+ginger extract 9 mg dose group, and 5-FU+ginger extract 18 mg dose group. At days 3, 5, 7, and 9, 2 rats per day were killed by decapitation. Then the ileal rats were made to be sections and were colored by hematoxylin and eosin (HE). From each section, we measured height of 1 villi and depth of 1 crypt in 3 vision field. The data obtained were analyzed by Kruskal-Wallis test with SPSS for Windows Release 16.0 program. Kruskal-Wallis test showed mean of villus height had p-value = 0,083 in day 3, p-value = 0,083 in day 5, p-value = 0,139 in day 7, and p-value = 0,160 in day 9. Whereas mean of crypt depth had p-value = 0,114 in day 3, p-value = 0,198 in day 5, p-value = 0,083 in day 7, and p-value = 0,092 in day 9. All of p-values showed $p > 0.05$ in which there were no significant differences. From this experiment, we concluded that there was no effect of ginger extract giving toward reparation of mucosal damage of ileal rats which exposure by 5-FU.

Keywords: 5-fluorouracil, ginger extract, mucositis

PENDAHULUAN

5-fluorourasil (5-FU) merupakan kemoterapi analog pirimidin sintetis yang telah digunakan selama beberapa dekade sebagai antineoplastik dengan spektrum luas terhadap tumor solid dan berbagai malignansi seperti kanker pada traktus gastrointestinal, kanker payudara, dan kanker pada leher dan kepala. Metabolit aktif 5-FU (5-FdUMP) mencegah sintesis DNA melalui penghambatan terhadap timidilat sintetase (Baydar et al. 2005). Aktivitas penghambatan ini tidak bekerja selektif pada sel-sel tumor saja, tetapi juga pada sel-sel normal yang berproliferasi cepat seperti sel-sel epitel mukosa traktus gastrointestinal (GIT) dan selanjutnya menyebabkan terjadinya mukositis pada GIT (Shirasaka et al. 2000; Rosen et al. 2006).

Pada tingkat seluler, mukositis akibat pemberian 5-FU disebabkan adanya kerusakan DNA dan ditandai dengan terjadinya apoptosis, inflamasi, hingga ulserasi. Hal ini menyebabkan kerusakan mukosa intestinum yang ditandai dengan pemendekan vili dan berkurangnya kedalaman kript (Verburg et al. 2001; Niscola et al. 2007).

Setelah mengalami kerusakan akibat paparan kemoterapi, mukosa intestinum akan mengalami regenerasi. Regenerasi mulai terjadi pada hari ke-5 dan regenerasi lengkap terjadi pada hari ke-8 sampai 10 (Verburg et al. 2001). Mukositis intestinum yang paling parah terjadi di *ileum* (Niscola et al. 2007). Di samping itu, *ileum* merupakan tempat utama terjadinya absorpsi nutrisi. Manifestasi mukositis intestinum yang berupa mual,

muntah, dan diare menyebabkan masukan nutrisi pada pasien kemoterapi menjadi terganggu, sehingga dapat memperburuk kondisi pasien. Oleh karena itu, penelitian ini difokuskan pada *ileum*.

Mengingat dampak yang ditimbulkan oleh mukositis saluran cerna, sangat diperlukan suatu terapi alternatif yang efektif untuk mengurangi kerusakan mukosa akibat paparan 5-FU. Smith et al. (2004) menyebutkan bahwa pemberian ekstrak jahe dengan dosis 500-1000 mg mempunyai efek sebagai antiemetik pada wanita hamil. Kandungan aktif dalam jahe yang dominan adalah [6]-gingerol dan [6]-shogaol. [6]-gingerol berperan sebagai antiinflamasi dengan menghambat produksi prostaglandin E₂ (PGE₂) (Young et al. 2005) dan menghambat aktivitas sitokin proinflamasi seperti NF- κ B, TNF- α , IL-1 β , dan juga COX-2 (Surh 2002). Sedangkan [6]-shogaol berperan dalam mengurangi respon inflamasi dengan menghambat *lipxygenase* (Levy et al. 2006).

Dengan adanya bukti-bukti bahwa pemberian ekstrak jahe mempunyai efek terhadap gangguan gastrointestinal, menghambat sintesis prostaglandin dan leukotrien, dan dapat menghambat terjadinya inflamasi, peneliti ingin melihat apakah pemberian ekstrak jahe dapat menginduksi perbaikan yang nyata pada kerusakan mukosa saluran cerna terutama *ileum* yang mendapat paparan kemoterapi 5-FU.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe terhadap perbaikan kerusakan mukosa *ileum* tikus yang terpapar 5-FU.

BAHAN DAN METODE

Lokasi penelitian

Pemeliharaan tikus dan pembuatan blok jaringan intestinum dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Subjek penelitian

Populasi. Tikus jantan galur Wistar dengan berat badan 125-160 gram dikondisikan satu tikus dalam satu kandang selama tiga hari dengan siklus terang dan gelap masing-masing 12 jam. Kandang diletakkan dalam ruangan dengan suhu udara terkontrol dan tikus diberikan makanan standar dan minuman tidak terbatas. Semua protokol eksperimen diajukan untuk mendapat persetujuan komisi etik binatang percobaan.

Sampel. Besar sampel tiap kelompok dihitung dengan rumus Federer (Purawisastra 2001), dimana (t) adalah jumlah ulangan untuk tiap perlakuan dan (n) adalah jumlah perlakuan.

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(4-1)(t-1) \geq 15$$

$$t \geq 6$$

Teknik sampling. Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *quota sampling*. Sampel dipilih dari satu indukan dengan umur dan jenis kelamin yang sama. Sampel sebanyak 28 ekor dibagi menjadi 4 kelompok sehingga setiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus.

Desain penelitian adalah *post test only control group design*.

Bahan utama yang digunakan adalah 5-FU dan ekstrak jahe.

Cara kerja

Persiapan

Sebanyak 28 ekor tikus galur Wistar ditimbang dan dikelompokkan secara acak ke dalam 4 kelompok. Setiap ekor tikus ditempatkan pada masing-masing satu kandang tersendiri. Tikus diadaptasikan selama tiga hari dengan siklus terang dan gelap masing-masing 12 jam. Kandang diletakkan dalam ruangan dengan suhu udara terkontrol dan tikus diberikan makanan standar dan minuman tidak terbatas. Selanjutnya pada hari ke-0, 7 ekor pada kelompok I injeksi 2 ml larutan normal saline secara intraperitoneal (kelompok kontrol) (Tavakkolizadeh et al. 2000). Kemudian semua tikus dikorbankan pada hari ke-1. (i) 7 ekor kelompok II mendapatkan asupan makanan standar dan injeksi 5-FU dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari ke-0 (kelompok perlakuan I). Kemudian, tikus dikorbankan pada hari ke-3, 5, 7, dan 9. (ii) 7 ekor kelompok III mendapatkan asupan makanan standar dan injeksi 5-FU dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari pertama, pada hari ke-3 dan seterusnya sampai hari ke-9 diberi larutan yang mengandung ekstrak jahe menggunakan sonde lambung dengan dosis I (kelompok perlakuan II). Tikus dikorbankan pada hari ke-3, 5, 7, dan 9. (iii) 7 ekor kelompok IV mendapatkan asupan makanan

standar dan injeksi 5-FU dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari pertama, pada hari ke-3 dan seterusnya sampai hari ke-9 diberi larutan yang mengandung ekstrak jahe menggunakan sonde lambung dengan dosis II (kelompok perlakuan III). Tikus dikorbankan pada hari ke-3, 5, 7, dan 9.

Pengorbanan

Setelah diberikan perlakuan, tikus dikorbankan pada hari yang telah ditentukan dengan cara *neck dislocation*. Organ *ileum* diambil untuk dibuat preparat histologis dengan metode blok parafin dan dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE).

Pengamatan preparat histologis

Setiap potongan jaringan dibuat 2 preparat dengan tebal irisan $\pm 5\mu\text{m}$. Setelah dibuat preparat histologis, dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi pengukur skala mikrometer. Panjang vili dan kedalaman kriptte diukur. Untuk mengukur panjang vili digunakan perbesaran 100x sedangkan untuk mengukur kedalaman kriptte digunakan perbesaran 400x.

Dari tiap preparat dilihat 3 lapang pandang dan tiap lapang pandang dipilih 1 vili dan kriptte. Vili dan kriptte yang akan diukur dipilih yang utuh atau jika mengalami kerusakan bukan akibat kesalahan pemotongan. Pengukuran dimulai dari pangkal hingga puncak vili dan dari permukaan hingga dasar kriptte. Dari hasil pengukuran tersebut akan didapatkan selisih ukuran vili dan kriptte saat mulai terjadi kerusakan (hari ke-3) hingga terjadi regenerasi (hari ke-5, 7, 9). Perbaikan mukosa pada kelompok yang dipapar 5-FU tanpa terapi dibandingkan dengan perbaikan mukosa pada kelompok yang dipapar 5-FU dengan pemberian ekstrak jahe dan dibandingkan pula terhadap kontrol.

Analisis statistik

Untuk mengetahui perbedaan yang bermakna di antara semua kelompok perlakuan dilakukan uji *One Way Anova* ($\alpha = 0.05$) dengan syarat data terdistribusi normal dan homogen. Apabila data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, maka digunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berat badan subjek penelitian

Sebelum diberi perlakuan, terlebih dahulu dilakukan penimbangan berat badan tikus dengan tujuan untuk menentukan dosis 5-FU dan ekstrak jahe yang akan diberikan, sehingga didapatkan dosis yang tepat. Dari 28 tikus yang digunakan dalam penelitian, diperoleh rata-rata berat badan sebesar $142,50 \pm 9,179$ gram. Setelah itu tikus dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan dihitung rata-rata berat badan setiap kelompok (Tabel 1).

Dari Tabel 1 dapat dilihat rata-rata berat badan setiap kelompok perlakuan. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan bermakna rata-rata berat badan pada 4 kelompok, dilakukan uji *one way anova* menggunakan

program *SPSS for Windows Release version 16.0*. Untuk dapat melakukan uji *one way anova*, harus memenuhi 2 syarat yaitu sampel harus terdistribusi normal dan homogen. Dari uji normalitas sampel, didapatkan $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan berat badan terdistribusi normal. Kemudian analisis homogenitas varian menunjukkan $p = 0,983$ ($p > 0,05$) yang berarti data terdistribusi homogen. Oleh uji prasyarat *one way anova* telah terpenuhi, data berat badan dapat diuji dengan *one way anova*. Hasil uji *one way anova* menunjukkan $p = 0,238$ ($p > 0,05$). Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna berat badan tikus pada seluruh kelompok, sehingga diharapkan hasil penelitian tidak dipengaruhi oleh perbedaan rata-rata berat badan tikus pada tiap kelompok.

Tinggi vili mukosa ileum

Pengamatan histologis preparat mukosa ileum dari tiap kelompok perlakuan dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Pengukuran panjang vili menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Pada lensa objektifnya ditambahkan mikrometer agar dapat dilakukan pengukuran. Dari tiap preparat dipilih 3 lapang pandang dan tiap lapang pandang dipilih satu vili. Vili yang diukur dipilih yang utuh atau jika mengalami kerusakan bukan akibat kesalahan pembedahan. Pengukuran dimulai dari pangkal hingga puncak vili. Rata-rata tinggi vili pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 dapat dilihat perbandingan rata-rata tinggi vili mukosa ileum pada tiap kelompok perlakuan. Pada hari ke-3, rata-rata tinggi vili pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Kelompok PII mempunyai nilai rata-rata tinggi vili lebih besar daripada kelompok PI, namun lebih kecil dibandingkan dengan kelompok PIII. Pada hari ke-5, rata-rata tinggi vili pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Kelompok PI mempunyai nilai rata-rata tinggi vili lebih besar daripada kelompok PII, namun lebih kecil dibandingkan dengan kelompok PIII. Pada hari ke-7, rata-rata tinggi vili pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Kelompok PII mempunyai nilai rata-rata tinggi vili lebih besar daripada kelompok PI, namun lebih kecil dibandingkan dengan kelompok PIII. Pada hari ke-9, rata-rata tinggi vili pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K, namun lebih besar dibandingkan dengan kelompok PII dan PIII. Perbedaan rata-rata tinggi vili dapat digambarkan dengan garis bertanda seperti pada Gambar 2.

Kemudian, data yang telah diperoleh dianalisis dengan uji *one way anova*. Untuk dapat melakukan uji *one way anova* dilakukan uji normalitas dan homogenitas rata-rata tinggi vili mukosa ileum menggunakan program *SPSS for Windows Release version 16.0*.

Analisis statistik hari ke-3

Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata tinggi vili tiap kelompok pada hari ke-3 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value*

sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata tinggi vili pada semua kelompok perlakuan. Dari uji *Kruskal-Wallis* rata-rata tinggi vili pada hari ke-3 didapatkan *P-value* sebesar 0,083 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata tinggi vili yang signifikan pada hari ke-3).

Analisis statistik hari ke-5

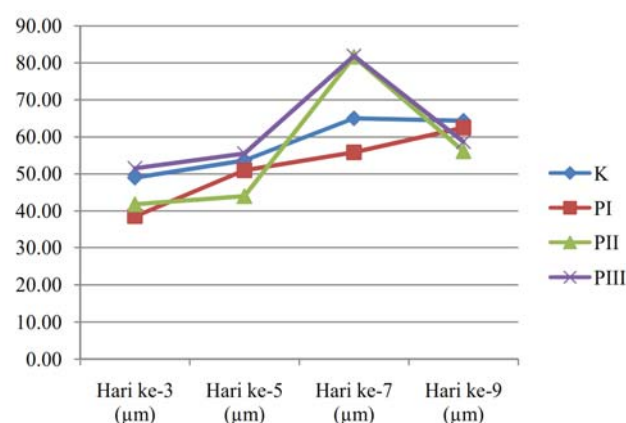
Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata tinggi vili tiap kelompok pada hari ke-5 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata tinggi vili pada semua kelompok perlakuan. Dari hasil analisis uji *Kruskal-Wallis* rata-rata tinggi vili pada hari ke-5 didapatkan *P-value* sebesar 0,083 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata tinggi vili yang signifikan pada hari ke-5).

Tabel 1. Rata-rata berat badan subjek penelitian

Kelompok	Rerata	SD
K	141,43	8,997
PI	140,71	8,381
PII	139,29	9,322
PIII	148,57	8,997

Tabel 2. Rata-rata tinggi vili semua kelompok

Kel.	Rerata hari ke-3 (μm) \pm SD	Rerata hari ke-5 (μm) \pm SD	Rerata hari ke-7 (μm) \pm SD	Rerata hari ke-9 (μm) \pm SD
K	49,00 \pm 0,94	53,67 \pm 1,41	65,00 \pm 3,78	64,34 \pm 0,47
PI	38,50 \pm 0,24	51,00 \pm 0,95	55,84 \pm 2,59	62,50 \pm 4,48
PII	41,83 \pm 3,54	44,00 \pm 0,95	81,67 \pm 1,41	56,17 \pm 0,23
PIII	51,50 \pm 0,24	55,50 \pm 0,71	81,84 \pm 2,60	58,67 \pm 0,94



Gambar 2. Rata-rata tinggi vili semua kelompok

Analisis statistik hari ke-7

Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata tinggi vili tiap kelompok pada hari ke-7 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata tinggi vili pada semua kelompok perlakuan. Dari hasil analisis uji *Kruskal-Wallis* rata-rata tinggi vili pada hari ke-7 didapatkan *P-value* sebesar 0,139 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata tinggi vili yang signifikan pada hari ke-7).

Analisis statistik hari ke-9

Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata tinggi vili tiap kelompok pada hari ke-9 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata tinggi vili pada semua kelompok perlakuan. Dari hasil analisis uji *Kruskal-Wallis* rata-rata tinggi vili pada hari ke-9 didapatkan *P-value* sebesar 0,160 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata tinggi vili yang signifikan pada hari ke-9).

Kedalaman kripte mukosa *Ileum*

Pengukuran kedalaman kripte menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100x. Pada lensa objektifnya ditambahkan mikrometer agar dapat dilakukan pengukuran. Dari tiap preparat dipilih 3 lapang pandang dan tiap lapang pandang dipilih satu kript. Kript yang diukur dipilih yang utuh atau jika mengalami kerusakan bukan akibat kesalahan pemotongan. Pengukuran dimulai dari permukaan hingga dasar kript. Rata-rata kedalaman kript pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada Tabel 3.

Dari Tabel 3 dapat dilihat perbandingan rata-rata kedalaman kript mukosa *ileum* pada tiap kelompok perlakuan. Pada hari ke-3, rata-rata kedalaman kript pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Kelompok PII mempunyai nilai rata-rata kedalaman kript lebih besar daripada kelompok PI, namun lebih kecil dibandingkan dengan kelompok PIII. Pada hari ke-5, rata-rata kedalaman kript pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K, namun lebih kecil dibandingkan dengan kelompok PII dan PIII. Pada hari ke-7, rata-rata kedalaman kript pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Kelompok PII mempunyai nilai rata-rata kedalaman kript lebih besar daripada kelompok PI dan PIII. Pada hari ke-9, rata-rata kedalaman kript pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Kelompok PII mempunyai nilai rata-rata kedalaman kript lebih besar daripada kelompok PI, namun lebih kecil dibandingkan dengan kelompok PIII.

Perbedaan rata-rata kedalaman kript dapat digambarkan dengan garis bertanda seperti pada Gambar 2. Kemudian, data yang telah diperoleh dianalisis dengan uji

one way anova. Untuk dapat melakukan uji *one way anova* dilakukan uji normalitas dan homogenitas rata-rata kedalaman kript mukosa *ileum* menggunakan program *SPSS for Windows Release version 16.0*.

Analisis statistik hari ke-3

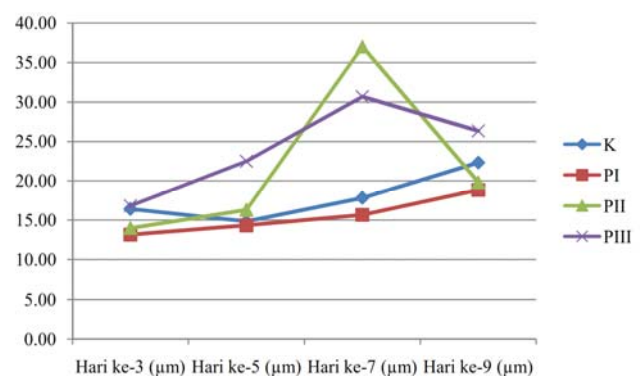
Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata kedalaman kript tiap kelompok pada hari ke-3 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata kedalaman kript pada semua kelompok perlakuan. Dari uji *Kruskal-Wallis* rata-rata kedalaman kript pada hari ke-3 didapatkan *P-value* sebesar 0,114 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata kedalaman kript yang signifikan pada hari ke-3).

Analisis statistik hari ke-5

Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata kedalaman kript tiap kelompok pada hari ke-5 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata kedalaman kript pada semua kelompok perlakuan. Dari uji *Kruskal-Wallis* rata-rata kedalaman kript pada hari ke-5 didapatkan *P-value* sebesar 0,198 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata kedalaman kript yang signifikan pada hari ke-5).

Tabel 3. Rata-rata kedalaman kript semua kelompok

Kel.	Rerata hari ke-3 (μm) \pm SD	Rerata hari ke-5 (μm) \pm SD	Rerata hari ke-7 (μm) \pm SD	Rerata hari ke-9 (μm) \pm SD
K	16.43 \pm 0,47	14.84 \pm 1,65	17.84 \pm 0,23	22.34 \pm 0,47
PI	13.17 \pm 0,17	14.34 \pm 1,89	15.67 \pm 0,47	18.84 \pm 0,23
PII	14.00 \pm 1,41	16.33 \pm 2,83	37.00 \pm 1,88	19.84 \pm 1,18
PIII	16.84 \pm 0,23	22.50 \pm 0,71	30.67 \pm 1,41	26.34 \pm 0,47



Gambar 2. Rata-rata kedalaman kript semua kelompok

Analisis statistik hari ke-7

Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata kedalaman kripte tiap kelompok pada hari ke-7 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel tidak homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata kedalaman kripte pada semua kelompok perlakuan. Dari uji *Kruskal-Wallis* rata-rata kedalaman kripte pada hari ke-7 didapatkan *P-value* sebesar 0,083 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata kedalaman kripte yang signifikan pada hari ke-7).

Analisis statistik hari ke-9

Dari hasil analisis uji normalitas nilai rata-rata kedalaman kripte tiap kelompok pada hari ke-9 menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dengan $\alpha = 0,05$, *P-value* tidak dapat dihitung (berarti distribusi sampel tidak normal). Sedangkan, dari uji homogenitas didapatkan *P-value* sebesar 0,000 ($p < 0,05$; berarti sampel homogen). Karena uji prasyarat untuk *one way anova* tidak terpenuhi, maka digunakan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan rata-rata kedalaman kripte pada semua kelompok perlakuan. Dari uji *Kruskal-Wallis* rata-rata kedalaman kripte pada hari ke-9 didapatkan *P-value* sebesar 0,092 ($p > 0,05$; berarti tidak terdapat perbedaan rata-rata kedalaman kripte yang signifikan pada hari ke-9).

Hasil pengamatan mikroskopis kondisi mukosa ileum pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.

Pembahasan

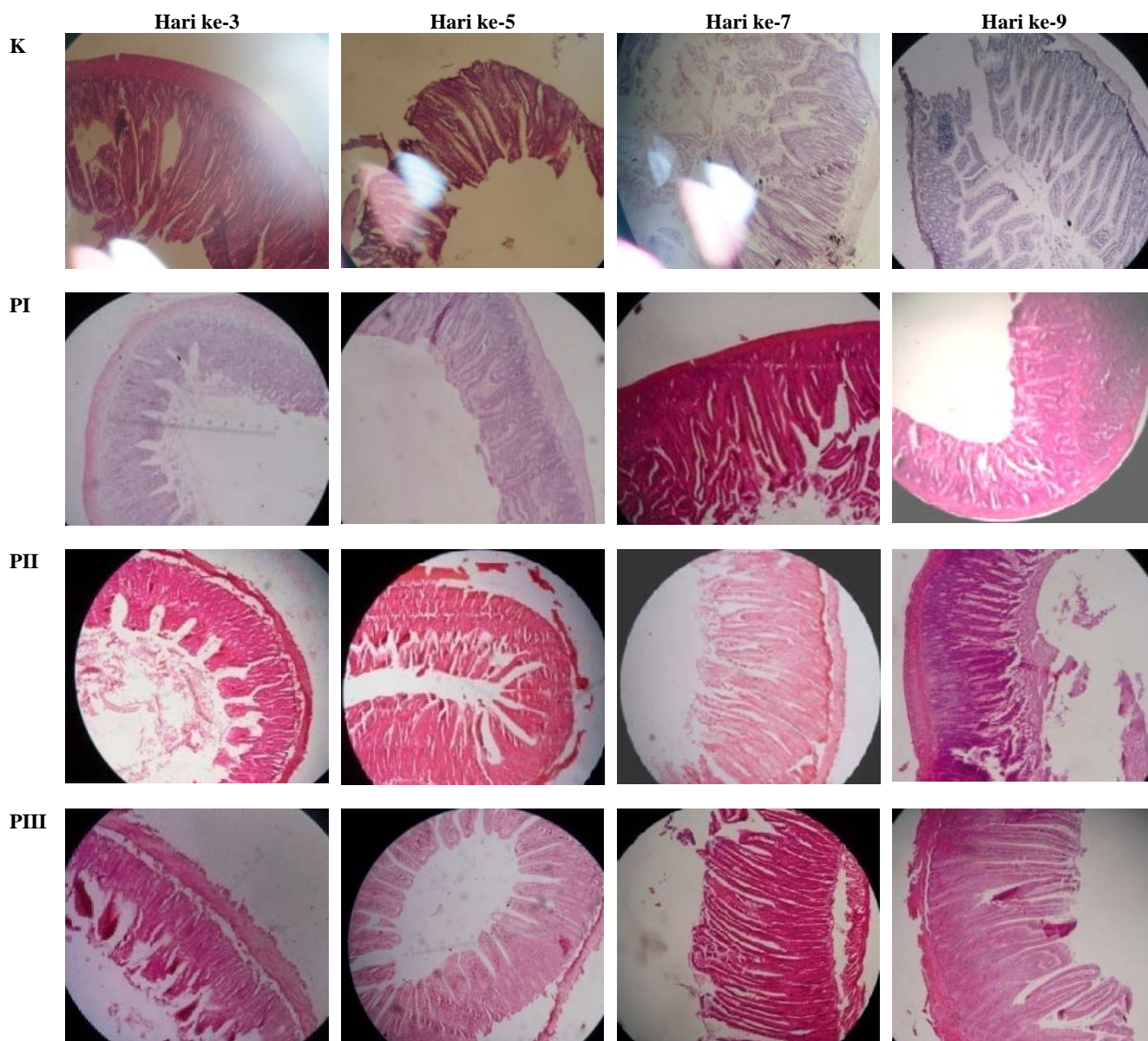
Penelitian ini menggunakan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan tinggi vili dan kedalaman kripte di antara semua kelompok. Hasil analisis berdasarkan uji *Kruskal Wallis* tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hal ini dapat disebabkan oleh karena sedikitnya sampel pada tiap hari pengamatan masing-masing kelompok. Perhitungan sampel yang telah dilakukan berdasarkan rumus Federer adalah untuk setiap kelompok. Sedangkan, dalam penelitian ini dari masing-masing kelompok subjek penelitian masih dibagi lagi menjadi 4 hari pengamatan yaitu hari ke-3, 5, 7, dan 9. Idealnya, sampel pada masing-masing hari pada setiap kelompok adalah lebih dari 6 ekor, namun karena terbatasnya biaya penelitian dan waktu penelitian maka peneliti menggunakan subjek penelitian sejumlah 7 ekor pada tiap kelompok.

Hasil penelitian ini dapat dibahas melalui perhitungan persentase rata-rata tinggi vili tiap kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol dan gambaran histologis vili dan kripte mukosa ileum pada semua kelompok. Rata-rata tinggi vili pada kelompok kontrol yaitu 58,00 μm dan rata-rata kedalaman kripte pada kelompok kontrol yaitu 17,84 μm . Rata-rata tersebut dianggap 100%.

Rata-rata tinggi vili pada kelompok PI yaitu yang diberi injeksi 5-FU saja pada hari ke-3 adalah 38,5 μm (66,38%), sedangkan pada hari ke-5 adalah 51 μm (87,93%), pada

hari ke-7 adalah 55,84 μm (96,28%), dan pada hari ke-9 adalah 62,5 μm (107,76%) (Tabel 4). Pada hari ke-3, vili mukosa ileum mengalami pemendekan ditunjukkan dengan persentase yang lebih kecil dibanding dengan kontrol. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Verburg et al. (2001) yang menunjukkan bahwa pada hari ke-3 dan 4 terjadi atrofi vili dan deplesi sel-sel epitel vili sehingga vili tampak mengalami pendataran. Hal ini didukung dengan gambaran histologis vili mukosa ileum tikus pada kelompok PI hari ke-3 (Gambar 3). Terlihat adanya pendataran vili sehingga lebih pendek dari vili pada kelompok K. Pada hari ke-5, mulai terjadi regenerasi vili ditandai dengan penambahan tinggi vili dan berkurangnya deplesi vili. Regenerasi ini terus berlangsung sampai hari ke-9. Namun, pada hari ke-9, terjadi hiperplasia epitel vili yang ditunjukkan dengan tinggi vili pada hari ke-9 yang melampaui tinggi vili pada kelompok kontrol. Keadaan ini serupa dengan hasil penelitian Verburg et al. (2000) yang menunjukkan terjadi hiperplasia epitel vili mukosa ileum pada hari ke-5 dan 6 setelah pemberian 5-FU. Namun, masih belum diketahui secara pasti mekanisme terjadinya hiperplasia epitel usus halus. Hasil penelitian Verburg et al. (2000) menunjukkan bahwa hiperplasia terbesar terjadi pada usus halus bagian distal yaitu ileum. Hal ini mungkin terjadi karena mekanisme umpan balik negatif dari ileum untuk menghentikan proliferasi epitel vili kurang terkontrol dibanding dengan usus halus bagian proksimal. Pada penelitian tersebut, pengamatan dilakukan sampai hari ke-10 sehingga dapat melihat lebih lanjut pengaruh pemberian 5-FU pada ketinggian vili mukosa ileum yaitu kembalinya ketinggian vili mukosa ileum mendekati nilai kontrol, sedangkan pada penelitian ini pengamatan hanya dilakukan sampai hari ke-9 sehingga tidak dapat melihat pengaruh pemberian 5-FU pada hari ke-10 dan selanjutnya.

Rata-rata panjang vili pada kelompok PII pada hari ke-3 adalah 41,83 μm (72,12%), pada hari ke-5 adalah 44 μm (75,86%), pada hari ke-7 adalah 81,67 μm (140,81%), dan pada hari ke-9 adalah 56,17 μm (96,84%). Dari perhitungan ini dapat dilihat bahwa persentase rata-rata tinggi vili kelompok PII pada hari ke-3 lebih besar dibanding dengan kelompok PI (66,38%). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe menghasilkan regenerasi yang lebih baik daripada regenerasi spontan kelompok PI. Namun, pada hari ke-5 persentase tinggi vili pada PII lebih kecil dari PI. Sedangkan pada hari ke-7, terjadi hiperplasia sel epitel PII ditandai dengan persentase yang lebih besar 40,81% dibanding dengan kelompok kontrol. Pada hari ke-9, tinggi vili mendekati nilai kontrol. Hiperplasia epitel vili terjadi lebih awal pada kelompok yang diberi ekstrak jahe, tidak seperti yang terjadi pada kelompok PI, hiperplasia terjadi pada hari ke-9. Hal ini mungkin karena adanya pengaruh pemberian jahe. Adanya pemberian jahe dapat menekan terjadinya inflamasi (Afzal et al. 2001) karena pengaruh 5-FU, sehingga dapat memperbaiki kerusakan mukosa ileum. Hal ini didukung dengan gambaran histologis mukosa ileum pada kelompok PII (Gambar 3).



Gambar 3. Pengamatan mikroskopis preparat histologis

Tabel 4. Persentase vili semua kelompok

Kel.	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7	Hari ke-9
K	100%	100%	100%	100%
PI	66,38%	87,93%	96,28%	107,76%
PII	72,12%	75,86%	140,81%	96,84%
PIII	88,79%	95,69%	141,10%	101,15%

Rata-rata tinggi vili pada kelompok PIII adalah 51,5 μm (88,79%) pada hari ke-3, 55,5 μm (95,69%) pada hari ke-5, 81,84 μm (141,10%) pada hari ke-7, dan 58,67 μm (101,15%) pada hari ke-9. Dari perhitungan ini dapat

dilihat bahwa persentase rata-rata tinggi vili kelompok PIII pada hari ke-3 lebih besar dibanding dengan kelompok PI dan PII. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak jahe dosis II dapat mempercepat perbaikan kerusakan epitel vili mukosa ileum. Namun, hiperplasia masih terjadi pada hari ke-7 dan kembali mendekati nilai normal pada hari ke-9. Apabila dilihat pengaruh pemberian ekstrak jahe pada perbedaan gambaran histologis (Gambar 3), Kelompok PIII menunjukkan keutuhan vili dan kript. Meskipun dari hasil analisis statistik tidak ada perbedaan yang bermakna tinggi vili dan kedalaman kript pada semua kelompok, perbedaan persentase dan gambaran histologis yang lebih baik dari kelompok PIII memberikan sinyal positif adanya pengaruh pemberian jahe terhadap kerusakan mukosa ileum akibat 5-FU.

Rata-rata tinggi vili hari ke-3, 5, dan 7 pada kelompok PI lebih kecil daripada kelompok K. Hal ini menunjukkan adanya kerusakan mukosa akibat pemberian 5-fluorourasil. Pada hari ke-9 telah terjadi peningkatan tinggi vili mukosa ileum mendekati nilai kontrol. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Verburg et al. (2000).

Rata-rata tinggi vili pada kelompok PII dan PIII lebih tinggi daripada PI. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan tinggi vili yang lebih besar pada kelompok yang mendapat pemberian ekstrak jahe dibanding dengan kelompok yang hanya diberikan 5-fluorourasil. Namun, terjadi hiperplasia vili pada hari ke-7. Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Verburg et al. (2000) dan penyebab terjadinya hiperplasia masih belum diidentifikasi. Analisis terhadap pengaruh pemberian ekstrak jahe mungkin dapat menjelaskan fenomena ini. Ekstrak jahe mempunyai pengaruh menghambat terjadinya inflamasi dan meningkatkan proliferasi sel untuk membantu regenerasi mukosa yang rusak. Pada keadaan tertentu seperti kontrol yang buruk dari individu terhadap keseimbangan deplesi dan proliferasi sel, hal ini dapat berlebihan sehingga terjadi hiperplasia. Namun, hiperplasia ini kembali mendekati nilai kontrol pada hari ke-9.

Rata-rata kedalaman kript pada kelompok PI pada hari ke-3 adalah 13,17 μm (73,82%), pada hari ke-5 adalah 14,34 μm (80,38%), pada hari ke-7 adalah 15,67 μm (87,84%), dan pada hari ke-9 adalah 18,34 μm (105,61%) (Tabel 5). Verburg et al. (2001) yang menyatakan bahwa regenerasi kript dimulai pada hari ke-3 dan 4. Pada penelitian ini, kedalaman kript pada hari ke-3 menunjukkan adanya pendangkalan. Namun, tidak diketahui perbandingannya dengan hari 1 karena tidak dilakukan pengamatan. Pada hari ke-5, mulai terjadi regenerasi dan berlanjut sampai hari ke-9 seperti penelitian yang dilakukan oleh Verburg et al. (2001). Seperti yang terjadi pada tinggi vili, pada hari ke-9 kedalaman kript melebihi nilai kontrol namun masih belum diketahui bagaimana hiperplasia terjadi.

Rata-rata kedalaman kript pada kelompok PII pada hari ke-3 adalah 14,00 μm (80,09%), pada hari ke-5 adalah 16,33 μm (91,54%), pada hari ke-7 adalah 37,00 μm (207,40%), dan pada hari ke-9 adalah 19,84 μm (111,21%). Pada penelitian ini terjadi hiperplasia mulai dari hari ke-7 dan seterusnya. Seperti yang terjadi pada vili, pemberian jahe menimbulkan adanya hiperplasia. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut bagaimana perbedaan hiperplasia pada vili dan kript.

Rata-rata kedalaman kript pada kelompok PIII pada hari ke-3 adalah 16,84 μm (94,39%), pada hari ke-5 adalah 22,5 μm (126,12%), pada hari ke-7 adalah 30,67 μm (171,92%), dan pada hari ke-9 adalah 26,34 μm (147,65%). Persentase rata-rata kedalaman kript pada kelompok PIII, terlihat sangat berbeda dengan kelompok K, PI, dan PII. Pada hari ke-3, kedalaman kript sudah mulai mendekati normal. Namun, terjadinya hiperplasia pun lebih awal dari kelompok PI dan PII. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut yang mengidentifikasi keutuhan vili dan kript agar tidak terjadi kesalahan dalam pengukuran.

Tabel 5. Persentase kedalaman kript semua kelompok

Kel.	Hari ke-3	Hari ke-5	Hari ke-7	Hari ke-9
K	100%	100%	100%	100%
PI	73,82%	87,93%	96,28%	107,76%
PII	80,09%	91,54%	207,40%	111,21%
PIII	94,39%	95,69%	141,10%	101,15%

Seperti yang terjadi pada tinggi vili, rata-rata kedalaman kript pada kelompok PII dan PIII lebih tinggi daripada PI. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan kedalaman kript yang lebih besar pada kelompok yang mendapat pemberian ekstrak jahe dibanding dengan kelompok yang hanya diberikan 5-fluorourasil. Namun, karena adanya hiperplasia epitel vili berakibat pada bertambah dalamnya kript pada hari ke-7. Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Verburg et al. (2000) dan penyebab terjadinya hiperplasia masih belum diidentifikasi. Analisis terhadap pengaruh pemberian ekstrak jahe mungkin dapat menjelaskan fenomena ini. Ekstrak jahe mempunyai pengaruh menghambat terjadinya inflamasi dan meningkatkan proliferasi sel untuk membantu regenerasi mukosa yang rusak. Pada keadaan tertentu seperti kontrol yang buruk dari individu terhadap keseimbangan deplesi dan proliferasi sel, hal ini dapat berlebihan sehingga terjadi hiperplasia. Namun, hiperplasia ini kembali mendekati nilai kontrol pada hari ke-9.

Belum ada penelitian mengenai pengaruh ekstrak jahe terhadap perbaikan mukosa ileum yang mengalami mukositis akibat kemoterapi. Hasil dalam penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna pada perbaikan mukosa ileum yang terjadi spontan dengan yang mendapat terapi ekstrak jahe. Namun, persentase rata-rata tinggi vili dan kedalaman kript yang lebih besar pada kelompok yang mendapat ekstrak jahe memberikan sinyal positif adanya pengaruh ekstrak jahe terhadap perbaikan mukosa ileum yang mengalami mukositis akibat kemoterapi. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengamati pengaruh yang terjadi pada setiap hari mulai dari hari pertama pemberian kemoterapi 5-FU sampai lebih dari sembilan hari, sehingga dapat diketahui kapan pengaruh ekstrak jahe mulai terjadi dan bagaimana pengaruhnya dalam memperbaiki mukositis saluran cerna khususnya pada pemberian 5-FU. Pemberian 5-FU dalam penelitian ini hanya pada hari pertama penelitian, padahal biasanya 5-FU diberikan dua kali dengan jangka waktu 24 jam (Verburg et al. 2001) sehingga hal ini dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh. Dosis pemberian ekstrak jahe yang optimal juga perlu diidentifikasi. Pada penelitian klinis yang dilakukan oleh Chrubasik et al. (2005), dosis jahe yang diberikan sebagai antiemesis adalah 400 mg (tiga kali sehari selama dua minggu), sedangkan pada penelitian ini digunakan dosis manusia 500 mg (satu kali sehari) dan 1000 mg (satu kali sehari) (Ernst dan Pitler 2000).

Kelemahan lain dalam penelitian ini adalah pembuatan ekstrak jahe yang tidak sesuai dengan protokol. Ekstrak jahe yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari

pelarutan serbuk jahe dengan menggunakan *aquadest*. Proses ekstraksi yang benar ialah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut. Apabila yang diinginkan adalah ekstrak encer, maka dibuat sediaan cair dari obat-obat asal tumbuh-tumbuhan, mengandung alkohol sebagai pelarut atau sebagai pengawet atau sebagai keduanya dan sedemikian rupa dibuat supaya tiap ml mengandung bahan obat 1 g obat standar dari obat yang dihasilkan (Howard 1989).

Salah satu cara untuk pembuatan ekstrak adalah dengan menggunakan metode maserasi. Istilah maserasi berasal dari bahasa Latin *macerare*, yang artinya “merendam”. Merupakan proses yang paling tepat di mana obat yang sudah halus memungkinkan untuk direndam dalam menstrum sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Dalam proses maserasi, obat yang akan diekstraksi biasanya di tempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bersama menstrum yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat, dan isinya dikocok berulang-ulang, lamanya berkisar 2-14 hari. Maserasi biasanya dilakukan pada temperatur 15-20°C selama 3 hari sampai bahan-bahan yang larut dapat melarut (Howard 1989).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak jahe tidak berpengaruh terhadap perbaikan kerusakan mukosa ileum tikus yang terpapar 5-FU.

DAFTAR PUSTAKA

- Afzal M, Al-Hadidi D, Menon M, Pesek J, Dhami MS. 2001. Ginger: an ethnomedical, chemical and pharmacological review. *Drug Metab Drug Interact* 18: 159-190.
- Baydar M, Dikilitas M, Sevinc A, Aydogdu I. 2005. Prevention of oral mucositis due to 5-fluorouracil treatment with oral cryotherapy. *J Natl Med Assoc* 97(8): 1161-1164.
- Chrubasik S, Pittler MH, Roufogalis BD. 2005. Zingiberis rhizome: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine* 12: 684-701.
- Ernst E, Pittler MH. 2000. Efficacy of ginger for nausea and vomiting: a systematic review of randomized clinical trials. *Br J Anaesth* 84: 367-371.
- Howard C. 1989. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Penerbit UI press. Jakarta.
- Levy ASA, Simon O, Shelly J, Gardener M. 2006. 6-Shogaol reduced chronic inflammatory response in the knees of rats treated with complete Freund's adjuvant. *BMC Pharmacol* 6: 12.
- Nicola P, Romani C, Cupelli L, Scaramucci L, Tendas A, Dentamaro T, Amadori S, de Fabritiis P. 2007. Mucositis in patients with hematologic malignancies: an overview. *Haematologica* 92: 222-231.
- Purawisastra S. 2001. Penelitian Pengaruh Isolat Galaktomannan Kelapa terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Kelinci. Litbang Depkes RI, Jakarta
- Rosen LS, Abdi E, Davis ID, Gutheil J, Schnell FM, Zalberg J, Cesano A, Gayko U, Chen M, Clarke S. 2006. Palifermin reduces the incidence of oral mucositis in patients with metastatic colorectal cancer treated with fluorouracil-based chemotherapy. *J Clin Oncol* 24: 5194-5200.
- Shirasaka T, Yamamitsu S, Tsuji A, Taguchi T. 2000. Conceptual changes in cancer chemotherapy: from an oral fluoropyrimidine prodrug, UFT, to a novel oral fluoropyrimidine prodrug, S-1, and low-dose FP therapy in Japan. *Invest New Drugs* 18: 315-329.
- Smith C, Crowther C, Willson K, Hotham N, McMillian V. 2004. Randomized Controlled Trial of Ginger to Treat Nausea and Vomiting in Pregnancy. *Obstet Gynecol* 103: 639-45.
- Surh YJ. 2002. Anti-tumor promoting potential of selected spice ingredients with antioxidative and anti-inflammatory activities: a short review. *Food Chem Toxicol* 40: 1091-1097.
- Tavakkolizadeh S, Shen R, Abraham P, Kormi N, Seifert P, Edelman ER, Jacobs DO, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE. 2000. Glucagon-like peptide 2: a new treatment for chemotherapy-induced enteritis. *J Surg Res* 91: 77-82.
- Verburg M, Renes IB, Meijer HP, Taminiau JA, Buller HA, Einerhand AW, Dekker J. 2000. Selective sparing of goblet cells and paneth cells in the intestine of methotrexate-treated rats. *Am J Physiol* 279: G1037-1047.
- Verburg M, Renes IB, Nispen DJPM, Ferdinandusse S, Jorritsma M, Buller HA, Einerhand AWC, Dekker J. 2001. Specific Responses in Rat Small Intestinal Epithelial mRNA Expression and Protein Levels During Chemotherapeutic Damage and Regeneration. *J Histochem Cytochem* 50(11): 1525-1536.
- Young HY, Luo YL, Cheng HY, Hsieh WC, Liao JC, Peng WH. 2005. Analgesic and anti-inflammatory activities of [6]-gingerol. *J Ethnopharmacol* 96: 207-210.