

Artikel Penelitian

**INDIKATOR PEMENDEKAN USUS MENCIT KOLITIS ULSERATIF YANG DIPULIHKAN DENGAN
PEMBERIAN SCFA DAN MINYAK BIJI LABU**

Gietri Indah Lestari¹, Putu Oky Ari Tania^{2*}, Dorta Simamora², Jimmy Hadi Widjaja³

¹Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

²Bagian Biomedik Penelitian Biomolekuler, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma
Surabaya

³Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya
Dukuh Kupang XXV/ 54, Surabaya

*Email: putuoky@uwks.ac.id

Abstrak

Salah satu penyakit inflamasi di usus adalah kolitis ulseratif, yang ditandai dengan beberapa gejala termasuk turunnya berat badan, adanya darah pada feces, demam, serta kontraksi pada panjang usus, yang dapat berpotensi menjadi kanker kolorektal. Penelitian ini bertujuan untuk mengobservasi efikasi dari suplementasi minyak biji labu dan Short Chain Fatty Acids (SCFA) pada pemulihan pemendekan usus mencit model kolitis ulseratif. Metode penelitian adalah eksperimen laboratorium dengan desain simple random sampling. Empat kelompok mencit yaitu K1 kontrol (aquades), K2 kolitis ulseratif (DSS 2% dilanjutkan aquades), K3 (DSS 2% dilanjutkan dengan SCFA), K4 (DSS 2% dilanjutkan dengan SCFA dan minyak biji labu). Hasil Penelitian ini adalah rerata panjang usus pada K1, K2, K3 dan K4 masing-masing adalah 10,73; 9,6; 9,92; dan 10,32. Perbedaan perlakuan tersebut terhadap panjang kolon menunjukkan tidak ada perbedaan di antara kelompok dengan uji ANOVA (p value 0,391). Pemberian SCFA dan minyak biji labu dapat memperbaiki ukuran panjang kolon sebagai indikator pemulihan inflamasi.

Kata kunci: kolitis ulseratif, panjang usus, mencit, DSS 2%

PENDAHULUAN

Perubahan dan evolusi terhadap epidemiologi penyakit *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), diperkirakan terkait dengan faktor lingkungan yang berperan dalam perubahan dan modifikasi ekspresi penyakit tersebut (Ananthakrishnan *et al.*, 2018). Terdapat 2 jenis IBD yang merupakan penyakit inflamasi di saluran pencernaan, yaitu *Chrohn's disease* (CD) dan *Ulcerative Colitis* (UC) (Chang *et al.*, 2021).

Gejala yang ditunjukkan pada pasien dengan UC seperti feces yang berdarah, nyeri abdominal serta penurunan berat badan yang sering dan umum seperti mual dan perut kembung (Raouf *et al.*, 2024). Penanganan yang tepat dan cepat pada UC akan mencegah terjadinya komplikasi seperti intestinal fibrosis, fistulas dan kanker kolon (Gelmez *et al.*, 2022), yang akan menambah beban dan angka kesakitan bahkan kematian.

Model hewan coba UC banyak dilakukan dengan pemberian Dextran Sulfate Sodium (DSS) yang dapat menginduksi inflamasi pada usus terutama menyerupai gejala UC pada manusia. DSS adalah bahan yang toksin bagi epitelium kolon dan pemberian dalam jangka pendek mampu untuk mencetuskan inflamasi kolon (Adamkova *et al.*, 2022). Menurut Kwon *et al.* (2022), pada mencit yang diberikan DSS dapat berkembang menjadi kolitis yang ditandai dengan penurunan berat badan, peningkatan *Disease Activity Index* (DAI), skor inflamasi dan pemendekan kolon (Kwon *et al.*, 2021).

Short Chain Fatty Acids (SCFA) adalah metabolit yang dihasilkan oleh fermentasi bakteri dari serat. Metabolit ini penting untuk suplai energi untuk keberlangsungan hidup sel epitel dan meningkatkan fungsi barier dari sel epitel (Kanda *et al.*, 2024). Aktivitas inflamasi dapat ditekan dengan adanya aktivitas antioksidan, yang salah satunya terdapat pada minyak biji labu. Terdapat sekitar 784,61 mg polifenol total pada minyak biji labu, yang terlibat dalam menurunkan oksidan, radikal bebas menurunkan inflamasi (Oh *et al.*, 2024). Sehingga suplementasi SCFA dan minyak biji labu diharapkan dapat menurunkan inflamasi pada mencit kolitis akibat DSS yang ditandai dengan pertambahan panjang kolon.

METODE

Mus musculus sebanyak 24 ekor dibagi menjadi 4 kelompok yaitu: kelompok K1, K2, K3 dan K4 yang mendapatkan persetujuan etik dengan nomer 96/SLE/FK/UWKS/2024 melalui komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

Kelompok 1: kontrol (diberi air minum steril *ad libitum*)

Kelompok 2: mencit model UC yang diinduksi DSS 2% pada air minumnya selama 5 hari dan diikuti pemberian air minum normal selama 7 hari (Lu *et al.*, 2019)

Kelompok 3: mencit model UC yang diinduksi DSS 2%, diikuti pemberian SCFA (67,5 mM **asetat**, 0,946mM **butirat** dan 25,6mM **propionate**) dalam air minum selama 7 hari (Lee *et al.*, 2022).

Kelompok 4: mencit model UC yang diinduksi DSS 2%, diikuti pemberian minyak Biji labu dosis 100 mg/kg) per oral, dan SCFA (67,5 mM asetat, 0,946mM butirat dan 25,6mM propionate) dalam air minum selama 7 hari (Arslanbas *et al.*, 2020)

Induksi kolitis pada mencit dengan pemberian DSS 2% pada air minum selama 5 hari diikuti dengan perlakuan sesuai dengan kelompoknya selama 7 hari, keesokan harinya, tikus diterminasi dan diukur panjang kolonnya (cm). Analisis statistik menggunakan uji *one way* ANOVA, $\alpha=0,05$ dengan software IBM SPSS statistik 27.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama 5 hari pemberian DSS 2% untuk induksi DSS, dilanjutkan dengan pemberian air minum, SCFA maupun kombinasi SCFA dan minyak biji labu, keesokan harinya sebanyak 24 ekor mencit diterminasi untuk diukur panjang kolonnya. Pengukuran kolon dari caecum sampai sekitar 1 cm dari anus. Pengukuran menggunakan penggaris dengan satuan cm dengan merek yang sama. Penampakan dari kolon masing-masing perwakilan kelompok dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penampang kolon pada masing-masing kelompok

Nampak secara rerata panjang kolon terpanjang terdapat pada kelompok K1 yang tidak diberi perlakuan apapun. Perwakilan kelompok yang hanya di beri DSS 2% yaitu kelompok kolitis setelah 5 hari pemberian DSS, keesokan harinya diterminasi yaitu pada Kelompok UC (Gambar paling kanan). Kelompok UC diketahui mengalami pemendekan kolon.

Pengukuran panjang kolon pada setiap kelompok dilakukan dengan menggunakan penggaris berbahan besi yang lurus dan berskala cm. Pada masing-masing kelompok memiliki rata-rata panjang kolon yaitu pada K1, K2, K3 dan K4 yaitu 10,7; 9,6; 9,9 dan 10,3. Pemberian DSS 2% selama 5 hari juga terbukti dapat menginduksi gejala kolitis yaitu adanya darah dalam feces serta terjadi diare, walaupun tidak semua mencit mengalami penurunan berat badan. Adanya darah dalam feces dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh DSS 2% pada feces (A) dan penampakan fisik pada mencit (B)

Pemberian DSS 2% selama 5 hari dapat menurunkan kondisi pada hewan coba, nampak darah pada feces dan konsistensi feces menjadi encer serta mengalami diare. Selain itu pada rambut-rambut hewan coba menjadi kusam dan terpantau adanya piloerection walaupun tidak terjadi pada semua mencit.

Tabel 1. Tabel pengukuran panjang kolon pada setiap kelompok

No.	Panjang Kolon (cm)				P value
	K1	K2	K3	K4	
1	12,2	10	9,5	10,9	0,391
2	9,6	6,1	11	9,8	
3	11	10,5	9,3	8,6	
4	11,5	9,8	9,9	10,9	
5	10,3	10,7	9,4	10,4	
6	9,8	10,5	10,4	11,3	
Rata-rata	10,7	9,6	9,9	10,3	

Panjang kolon pada kondisi kolitis

Model hewan coba yaitu mencit kolitis pada penelitian ini menggunakan induksi Dextran Sulfate Sodium (DSS) 2 % sebagai pengganti air minum. Pada pemberian DSS 2% menunjukkan adanya penampakan fisik piloerected hair (Gambar 2B.). Pemberian DSS dapat menyebabkan inflamasi pada usus dengan karakteristik fisik dan klinis pada mencit yang mengalami perubahan dibandingkan dengan kelompok kontrol (K1). Berdasarkan (Monteros *et al.*, 2021), karakteristik inflamasi pada usus ditunjukkan dengan penurunan berat badan, anemia, piloerection, dan pembengkakan pada hewan coba.

Inflamasi pada usus juga ditandai dengan pemendekan kolon, hal ini nampak jelas pada mencit yang hanya diberi DSS 2% (UC) pada Gambar 1. *Hallmark* terjadinya kolitis akibat DSS adalah terdapatnya infiltrasi leukosit ke dalam dinding kolon sehingga terjadi kerusakan jaringan yang masif (Meers et al., 2018). Pemendekan usus dalam hal ini kolon mengindikasikan kerusakan intestinal yang berat. Ukuran panjang kolon dapat digunakan sebagai salah satu indikator kerusakan intestinal pada kolitis akibat DSS pada tikus (Li et al., 2022).

Pemberian DSS 2% selama 5 hari terbukti cukup untuk menginduksi inflamasi dan kerusakan intestinal secara akut. Residu sulfat dari DSS menyebabkan ketidakstabilan lapisan mukus dan meningkatkan permeabilitas intestinal sehingga mengakibatkan kerusakan barrier epitel (Kanda et al., 2024). Pada penelitian Gao et al, pemberian DSS menyebabkan inflamasi mukosal dan terdapat penurunan jumlah sel B, neutrofil maupun makrofag serta destruksi dari bentuk kriptus usus (Gao et al., 2018).

Pemberian SCFA setelah induksi kolitis menunjukkan adanya perbaikan ukuran panjang kolon dibandingkan tikus yang hanya diinduksi kolitis. Short Chain Fatty Acids memiliki kemampuan untuk mempertahankan barrier intestinal (Venegas et al., 2019). Pemberian SCFA pada tikus kolitis dapat menurunkan respon inflamasi pada kolon, namun tidak memberikan perlindungan sebagai anti oksidatif (Sevim and Mergen, 2021). Pada penelitian ini pemberian SCFA pada air minum mencit dapat dilihat pengaruhnya pada panjang kolon pada kelompok K3, rata-rata ukuran panjang kolon lebih besar dari pada kelompok K2, namun tidak ada perbedaan yang signifikan. Konsentrasi SCFA yang digunakan yaitu sodium asetat, butirat dan propionat yang diberikan yaitu masing-masing 67,5 mM asetat, 0,946mM butirat dan 25,6mM propionate. Konsentrasi butirat yang diberikan dalam jumlah yang kecil. Menurut (Lee et al., 2021), Konsentrasi butirat 40mM berperan dalam mempromosikan sel T regulator dan produksi IL-17 dan meningkatkan serta memproteksi mikrobiota usus.

Short Chain Fatty Acids khususnya Butirat memiliki kemampuan meningkatkan fungsi barrier epitel, selain itu sodium ini berperan juga sebagai sumber energi utama bagi sel-sel di kolon (Venegas et al., 2019). Pada prosedur transplantasi fecal mikrobiota yang kaya akan SCFA atau pemberian butirat dapat memperbaiki kondisi kebocoran usus (Tan et al, 2021). Namun, hasil yang berbeda dilaporkan oleh (Lee et al., 2021), pemberian SCFA menggunakan model kolitis menunjukkan perbaikan yang signifikan pada inflamasi di kolon, karena pemberian SCFA ini mungkin saja tidak efektif karena metabolisme butirat yang terganggu pada kondisi mukosa yang mengalami inflamasi.

Pada kelompok K4 pemberian SCFA yang digabungkan dengan minyak biji labu dosis 100 mg/kg BB menunjukkan perbaikan kondisi pada usus yaitu terjadi pemanjangan usus, dengan rata-rata 10,3 cm. Biji labu dikenal memiliki berbagai komponen bioaktif seperti senyawa protein, serat dan lemak, serta polifenol yang dapat berperan sebagai antioksidan (Laaraj et al., 2023). Selain itu kandungan karotenoid dapat diketahui sebagai *intestinal protective*, tokoferol yang dikandungnya juga berperan sebagai antioksidan yang dapat mengatasi (*Scavenger*) radikal bebas (Nascimento et al., 2021). Tokoferol khususnya α -tokoferol memiliki peran penting dalam meregulasi transkripsi gen dan membantu pengaturan proliferasi dan diferensiasi sel, adhesi sel dan respon imun (Singh and Kumar, 2024). Sehingga pemberian biji labu dan SCFA dapat digunakan sebagai pemulihan inflamasi akibat kolitis dan memperbaiki kelimpahan bakteri di usus sehingga akan terjadi perbaikan penyakit.

KESIMPULAN

Pemberian SCFA dan minyak biji labu merupakan kombinasi yang dapat memulihkan inflamasi yang ditandai dengan peningkatan ukuran panjang kolon yang tidak berbeda dengan kondisi normal (*p value* 0,391).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Universitas Wijaya Kusuma Surabaya melalui Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat yang telah memberikan bantuan pendanaan pada penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Adamkova, P. *et al.* (2022) 'veterinary sciences Dextran Sulphate Sodium Acute Colitis Rat Model : A Suitable Tool for Advancing Our Understanding of Immune and Microbial Mechanisms in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease', pp. 1–23.
- Ananthkrishnan, A.N. *et al.* (2018) 'Environmental triggers in IBD: A review of progress and evidence', *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 15(1), pp. 39–49. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.136>.
- Arslanbas, E. *et al.* (2020) 'Anti-inflammatory activity of Turkey source pumpkin seed oil in rat edema model', *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 77(2), pp. 305–312. Available at: <https://doi.org/10.32383/APPDR/118962>.
- Chang, C.S. *et al.* (2021) 'Identification of a gut microbiota member that ameliorates DSS-induced colitis in intestinal barrier enhanced Dusp6-deficient mice', *Cell Reports*, 37(8). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110016>.
- Gao, X. *et al.* (2018) 'Chronic stress promotes colitis by disturbing the gut microbiota and triggering immune system response', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(13), pp. E2960–E2969. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1720696115>.
- Gelmez, E. *et al.* (2022) 'Characterization of Maladaptive Processes in Acute, Chronic and Remission Phases of Experimental Colitis in C57BL/6 Mice', *Biomedicines*, 10(8), pp. 1–18. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081903>.
- Kanda, S. *et al.* (2024) 'Dietary Fiber Deficiency Accelerates Colitis in Mice in the Short Term Independent of Short-Chain Fatty Acids', *Gastroenterology Insights*, 15(3), pp. 730–743. Available at: <https://doi.org/10.3390/gastroent15030052>.
- Kwon, J. *et al.* (2021) 'DSS-induced colitis is associated with adipose tissue dysfunction and disrupted hepatic lipid metabolism leading to hepatosteatosis and dyslipidemia in mice', *Scientific Reports*, 11(1), pp. 1–16. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84761-1>.
- Laaraj, S. *et al.* (2023) 'Immunostimulant and Pharmacological Activities , of Cucurbita Maxima Seeds on Humoral and Cellular Immunity Cells and their Functions Abstract ', pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.2174/0118749445274775231204095205>.
- Lee, J.G. *et al.* (2022) 'Impact of short-chain fatty acid supplementation on gut inflammation and microbiota composition in a murine colitis model', *Journal of Nutritional Biochemistry*, 101, p. 108926. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2021.108926>.
- Li, W. *et al.* (2022) 'Taxifolin Alleviates DSS-Induced Ulcerative Colitis by Acting on Gut Microbiome to Produce Butyric Acid', *Nutrients*, 14(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/nu14051069>.
- Lu, J. *et al.* (2019) 'Escherichia coli promotes DSS-induced murine colitis recovery through activation of the TLR4/NF-κB signaling pathway', *Molecular Medicine Reports*, 19(3), pp. 2021–2028. Available at: <https://doi.org/10.3892/mmr.2019.9848>.
- Meers, G.K. *et al.* (2018) 'Impaired resolution of dss-induced colitis in mice lacking the glucocorticoid receptor in myeloid cells', *PLoS ONE*, 13(1), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190846>.
- Monteros, M.J.M. *et al.* (2021) 'Probiotic lactobacilli as a promising strategy to ameliorate disorders associated with intestinal inflammation induced by a non-steroidal anti-inflammatory drug', *Scientific Reports*, 11(1), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80482-z>.
- Nascimento, R. de P. do *et al.* (2021) 'Review on the potential application of non-phenolic

- compounds from native Latin American food byproducts in inflammatory bowel diseases', *Food Research International*, 139(July 2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109796>.
- Oh, J. et al. (2024) 'Evaluation of Antioxidant Effects of Pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) Seed Extract on Aging- and Menopause-Related Diseases Using Saos-2 Cells and Ovariectomized Rats', *Antioxidants*, 13(2). Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox13020241>.
- Raouf, Z. et al. (2024) 'Colitis-Induced Small Intestinal Hypomotility Is Dependent on Enteroendocrine Cell Loss in Mice', *Cmgh*, 18(1), pp. 53–70. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2024.02.017>.
- Sevim, M. and Mergen, A. (no date) 'The Effect of Short-chain Fatty Acid Supplementation on Acute Colonic Inflammation in Rats Fed With Western Diet : Role of the Peroxisome'.
- Singh, A. and Kumar, V. (2024) 'Grain & Oil Science and Technology Pumpkin seeds as nutraceutical and functional food ingredient for future : A review', *Grain & Oil Science and Technology*, 7(1), pp. 12–29. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2023.12.002>.
- Venegas, D.P. et al. (2019) 'Short chain fatty acids (SCFAs)mediated gut epithelial and immune regulation and its relevance for inflammatory bowel diseases', *Frontiers in Immunology*, 10(MAR). Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00277>.