

Sirih Merah sebagai Agen Anti-Inflamasi pada Mencit Model Rheumatoid Arthritis

Siti Imroatul Maslikah¹, Sri Rahayu Lestari¹, Nuning Wulandari¹

¹Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Jl. Semarang No.5, 65145, Indonesia
email: siti.imroatul.fmipa@um.ac.id.

Abstrak

Sitokin Interleukin 6 (IL-6) dan Tumor Necrosis Factor α (TNF- α) berperan dalam terjadinya inflamasi pada penderita Rheumatoid Arthritis (RA). Pengobatan RA umumnya menggunakan obat sintesis namun dalam jangka panjang memiliki efek samping bagi tubuh. Sirih merah merupakan salah satu tanaman dipakai untuk mengobati inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah menguji pengaruh ekstrak daun sirih merah (EDSM) terhadap kondisi anatomi vili usus dan ekspresi sitokin proinflamasi IL-6 dan TNF- α pada preparat jaringan usus. 24 ekor mencit jantan galur swiss berumur 8 minggu dengan berat 27 ± 3 gr. 20 ekor mencit model RA dibuat dengan menyuntikan Complete Freund's Adjuvant 0,01 ml secara intraperitoneal, setelah 7 hari di booster dengan menyuntikkan Incomplete Freund's Adjuvant 0,03 ml di ekstremitas bawah sebelah kiri bawah bagian telapak kaki. Mencit kemudian dibagi menjadi 6 kelompok yaitu normal, RA (K-), RA+aspirin (K+), RA+EDSM dosis 100 mg/kgBB (P1), 200 mg/kgBB (P2), dan 400 mg/kgBB (P3). Hasil penelitian pada menunjukkan bahwa vili usus yang diwarni dengan hematoxylin-eosin pada kelompok perlakuan K- mengalami kerusakan dan intensitas ekspresi IL-6 dan TNF- α yang paling tinggi berdasarkan pewarnaan imunohistokimia. ESDM menunjukkan perbaikan kondisi vili usus dan kecenderungan mengalami penurunan ekspresi IL-6 dan TNF- α . Dosis efektif yang dapat digunakan untuk pengobatan RA yaitu 400 mg/kgBB.

Kata Kunci: sirih merah, anti-inflamasi, Rheumatoid arthritis, flavonoid, imunohistokimia.

1. Pendahuluan

Rheumatoid arthritis (RA) merupakan penyakit yang banyak diderita orang yang berusia di atas 50 tahun dan pada umumnya disebabkan oleh auto imun. Penyakit ini ditandai dengan peradangan (inflamasi) pada lapisan sinovium sendi, hal tersebut menyebabkan kerusakan sendi dalam jangka panjang, rasa sakit yang berkepanjangan, kehilangan fungsi dan kecacatan [1]. Prevalensi penyakit RA di Negara Barat mencapai 1-2% , sedangkan di Asia Tenggara menunjukkan prevalensi sekitar 0,4% [2]. Indonesia memiliki prevalensi penyakit RA yaitu 23.3%-31.6% dari keseluruhan penduduk di Indonesia dengan kemungkinan terjadinya penyakit RA lebih tinggi pada wanita dibandingkan pria [3].

Penyakit RA merupakan kelainan autoimun yang menyebabkan inflamasi di membran sinovial sendi [4], [5]. Mekanisme inflamasi berawal dari adanya antigen yang diproses oleh

Antigen Presenting Cells (APC), menyebabkan Cluster of Differentiation 4+ (CD4+) teraktivasi. Aktivasi CD4+ mensekresi berbagai limfokin lain seperti Tumor Nuclear Factor (TNF- α), Interleukin 3 (IL-3), Interleukin 4 (IL-4), Interleukin 6 (IL-6), serta beberapa mediator lain yang bekerja merangsang makrofag untuk meningkatkan aktifitas fagositosisnya dan merangsang terjadinya proliferasi serta aktivasi sel B untuk memproduksi antibodi. Antibodi yang dihasilkan akan membentuk kompleks imun yang akan berdifusi secara bebas kedalam ruang sendi. Pengendapan kompleks imun di ruang sendi menyebabkan inflamasi yang berdampak pada kerusakan sendi. [6]. Peningkatan kadar sitokin dalam tubuh dapat berdampak pada proses metabolisme terutama lemak, protein, dan juga menyebabkan terjadinya inflamasi pada saluran pencernaan [7], [8]

Obat anti-inflamasi yang digunakan oleh masyarakat yaitu golongan glukokortikoid (steroid) dan non steroid, salah satunya aspirin. Obat sintesis ini memiliki efek negatif terhadap tubuh apabila digunakan terlalu sering sehingga diperlukan obat alternatif yang berasal dari bahan alam untuk mengobati RA. Salah satu tanaman obat yang digunakan oleh masyarakat Indonesia yaitu sirih merah. Sirih merah dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan imuno modulator [9]. Penelitian pada daun sirih merah menunjukkan adanya kandungan yang berasal dari metabolit sekunder berupa flavonoid, saponin, terpenoid, isoprenoid, eugenol, cyanogenic, dan golongan non-protein asam amino. Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan, antikanker, antidiabetik, antiobesitas, dan antiinflamasi [10], [11]. Penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah yang berasal dari tanaman tropis Indonesia pada mikroanatomi usus hewan model RA belum pernah dilakukan. Peneliti bertujuan untuk meneliti pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah dalam perannya untuk memperbaiki mikroanatomi usus dengan menggunakan indikator ekspresi sitokin IL-6 dan TNF- α .

2. Metode

2.1 Ekstraksi Sirih Merah

Ekstrak sirih merah didapatkan melalui metode perkolasi dan menggunakan etanol 70% sebagai pelarutnya. Ekstrak yang diperoleh dianggap ekstrak dengan konsentrasi 100%. Dosis ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB (berdasarkan penelitian sebelumnya).

2.2 Pembuatan hewan coba model Rheumatoid Arthritis (RA)

Hewan yang digunakan dalam penelitian adalah 24 ekor mencit jantan galur swiss dengan berat 27 ± 3 gram yang berumur 8 minggu yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) UGM Yogyakarta. Mencit diaklimasi dalam kandang plastik yang diberi alas sekam selama seminggu. Pemberian pakan setiap hari ± 5 g dan minum secara ad libitum. 20 ekor Mencit kemudian diinjeksi dengan Complete Freund's Adjuvant (CFA) dan Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) sebanyak 0,01 ml. Injeksi CFA dilakukan di intraperitoneal sebanyak 0,01 ml, setelah 7 hari dilakukan booster dengan diinjeksi IFA sebanyak 0,03 ml di ekstremitas posterior kiri pada bagian telapak kaki. Mencit kemudian

dibagi menjadi 6 kelompok yaitu normal (N), RA (K-), RA+aspirin (K+), RA ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kgBB (P1), RA+ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kgBB (P2), RA+ ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kgBB(P3).

Pemberian perlakuan selama 21 hari, kemudian hewan coba dikorbankan melalui dislokasi leher. Penelitian ini sudah disetujui oleh komite etik Universitas Brawijaya No. 983-KEP-UB. Usus dipotong sepanjang 3 cm untuk dibuat preparat dengan pewarnaan hematoxylin-eosin (HE) dan untuk pewarnaan imunohistokimia (IHK).

2.3 Pewarnaan hematoxylin-eosin (HE)

Jaringan usus difiksasi menggunakan 10% PBS-PFA, kemudian dikeringkan lalu di-embedding dalam blok paraffin. Jaringan usus kemudian dipotong dengan ukuran 5 μ m. Potongan jaringan usus tersebut kemudian diwarnai menggunakan hematoxylin-eosin (HE). Preparat jaringan usus yang telah diwarnai menggunakan HE kemudian diamati dibawah mikroskop cahaya (CX23, Olympus, Jepang). Pengamatan dilakukan dengan memperhatikan vili pada semua perlakuan.

2.4 Pewarnaan Immunohistokimia (IHK)

Eksresi sitokin proinflamasi interleukin 6 (IL-6) dan tumor necrosis factor α (TNF- α) pada jaringan usus diuji menggunakan metode pewarnaan imunohistokimia (IHK). Preparat ditetesi dengan antibodi primer anti-TNF- α reaktif tikus, antibodi primer anti-IL-6 reaktif mencit, dan BSA yang dicampurkan dengan perbandingan 1:1:1000 lalu diinkubasi selama 1 jam. Setelah itu preparat dicuci menggunakan Phosphat Buffer Saline (PBS). Persiapan pewarnaan antibodi sekunder dilakukan dengan mencampurkan antibodi sekunder anti-tikus berlabel fluorescent Fluorescein Isothiocyanate (FITC), antibodi sekunder anti-mencit berlabel rhodamin, dan BSA dengan perbandingan 1:1:1500 kemudian diinkubasi selama 1 jam. Preparat kemudian dicuci menggunakan PBS dikeringkan dengan tissue pada bagian tepinya, lalu ditutup menggunakan kaca penutup. Preparat yang sudah diwarnai menggunakan metode IHK double staining tersebut diamati dibawah mikroskop fluorescent (FSX 100, Olympus, Jepang) untuk diukur intensitasnya.

2.5 Analisis data

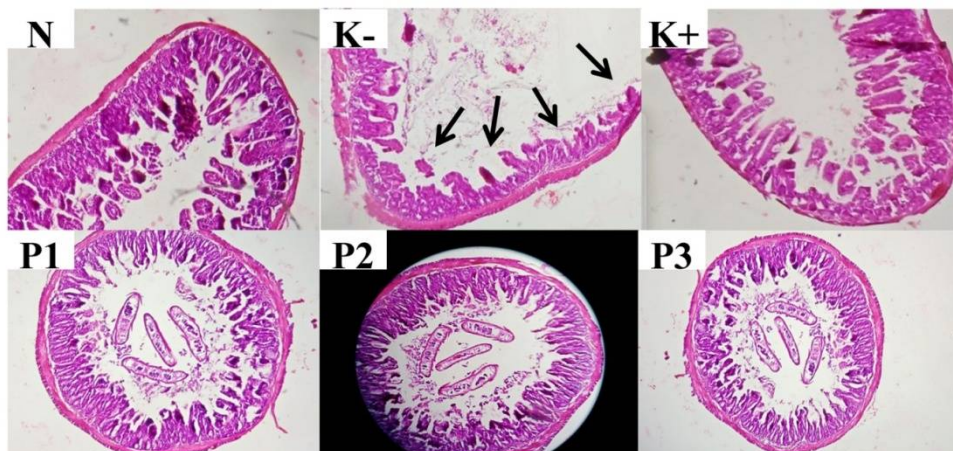
Data hasil pengamatan preparat yang diwarnai dengan HE dianalisis dengan analisis deskriptif. Data hasil pengukuran intensitas pada preparat yang diwarnai dengan IHK dianalisis menggunakan anava (analisis varian), jika signifikan ($p < 0.05$), maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan Multilevel Range Test (DMRT).

3. Data Dan Analisis

3.1 Hasil pengamatan dengan Pewarnaan HE

Pengamatan pada preparat histologi usus yang diwarnai dengan HE menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan K- mengalami kerusakan pada vili jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan N. Vili pada kelompok perlakuan K- lebih pendek dan

lumennya lebih besar. Pada kelompok perlakuan K+ (diberi obat aspirin) menunjukkan adanya perbaikan kondisi vili yaitu vili lebih panjang dibandingkan dengan kelompok perlakuan K-. Pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 juga menunjukkan adanya perbaikan kondisi vili yaitu vili lebih panjang daripada kelompok perlakuan K-. Hal ini menunjukkan bahwa pengobatan menggunakan aspirin atau ekstrak daun sirih merah menyebabkan adanya perbaikan kondisi vili pada mencit yang diinduksi Rheumatoid arthritis. Gambar preparat histologi usus yang diwarnai HE dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengamatan preparat histologi usus menggunakan mikroskop caya (perbesaran 100x). Tanda panah menunjukkan adanya kerusakan pada vili yaitu vili lebih pendek dibandingkan kelompok perlakuan N. N, Normal; K-, RA; K+, RA+aspirin; P1, RA+ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kgBB; P2, RA+ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kgBB; P3, RA+ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kgBB

3.2 Hasil pengamatan dengan pewarnaan IHK

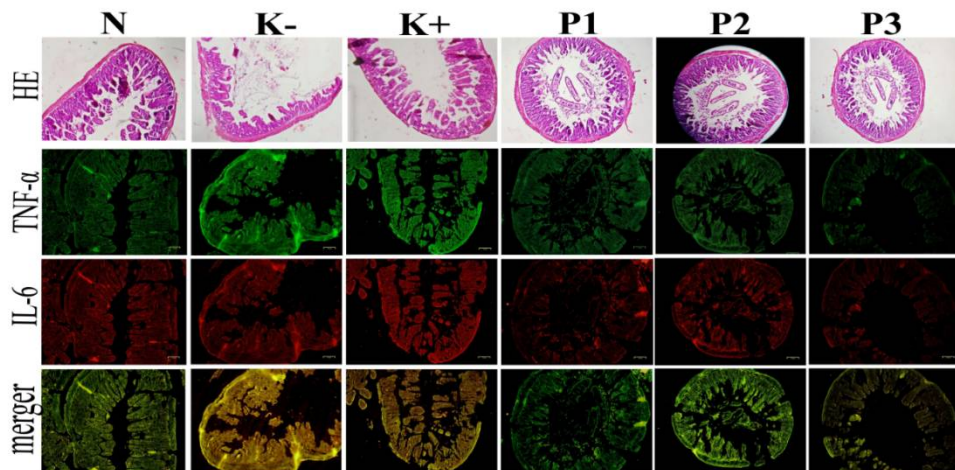
Berdasarkan uji statistik ANAVA menunjukkan ekspresi IL-6 pada preparat histologi usus menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan K- memiliki intensitas ekspresi IL-6 yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Pada kelompok perlakuan K+ (diberi aspirin) menunjukkan adanya penurunan intensitas ekspresi IL-6 dan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan N dan K-. Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun sirih merah P1, P2, dan P3 juga menunjukkan penurunan ekspresi IL-6 dan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan N dan K-. Pemberian ekstrak daun sirih juga dapat menurunkan ekspresi IL-6 lebih baik daripada aspirin. Pada kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 ini juga berbeda signifikan antar kelompoknya. Kelompok perlakuan P3 memiliki intensitas ekspresi IL-6 paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Ekspresi TNF- α pada preparat histologi usus menunjukkan bahwa pada kelompok perlakuan K- memiliki intensitas ekspresi TNF- α paling tinggi dibandingkan kelompok

perlakuan lainnya. Pada kelompok perlakuan K+ (diberi aspirin) menunjukkan adanya penurunan intensitas ekspresi TNF- α dan berbeda nyata dengan kelompok perlakuan N, namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan K-. Kelompok perlakuan P2 masih memiliki intensitas ekspresi TNF- α lebih tinggi dibandingkan N namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan K-. Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun sirih merah P1 dan P3 menunjukkan penurunan ekspresi IL-6 dan berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan N dan K-. Pemberian ekstrak daun sirih pada kelompok perlakuan P1 dan P3 juga menunjukkan penurunan ekspresi TNF- α lebih baik daripada aspirin. Kelompok perlakuan P3 menunjukkan intensitas ekspresi TNF- α paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Tabel rerata intensitas ekspresi IL-6 dan TNF- α pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Hasil pemotretan menggunakan mikroskop fluorescent dengan antibodi IL-6 dan TNF- α dapat dilihat pada Gambar 2.

Antibodi	Perlakuan	Rerata \pm std. error
IL-6	N	18.36 ^c \pm 1.05
	K-	66.21 ^a \pm 1.36
	K+	28.80 ^b \pm 0.95
	P1	11.13 ^d \pm 1.90
	P2	15.25 ^c \pm 0.70
	P3	0.78 ^e \pm 0.03
TNF- α	N	22.20 ^b \pm 0.87
	K-	70.67 ^a \pm 1.15
	K+	25.28 ^a \pm 1.57
	P1	17.79 ^c \pm 0.76
	P2	25.62 ^a \pm 1.12
	P3	0.11 ^d \pm 0.01

Tabel 1. Rerata Intensitas Sitokin Pronflamasi IL-6 dan TNF- α



Gambar 2. Hasil pemotretan ekspresi IL-6 dan TNF- α pada Preparat Histologi Usus serta pewarnaan HE. N, Normal; K-, RA; K+, RA+aspirin; P1, RA+ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kgBB; P2, RA+ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kgBB; P3, RA+ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kgBB.

4. Pembahasan

Adjuvant merupakan imunomodulator dan/atau sistem pengirim antigen dalam tubuh. Pemberian adjuvant bertujuan untuk meningkatkan rekrutmen berbagai komponen sel imun baik imun bawaan maupun imun adaptif, serta meningkatkan kemampuan pengikatan antigen [12]. Adjuvant merupakan substansi yang dapat meningkatkan imunogenisitas dan respon imun dengan tujuan untuk memperbaiki efisiensi dari suatu vaksin [12], [13] Pashina *et al*, 2005). Adjuvant dibedakan menjadi 2 yaitu incomplete Freund's adjuvant (IFA) dan Complete Freund's Adjuvant (CFA). IFA adalah emulsi air dalam minyak yang berisi antigen dalam bentuk cair, minyak paraffin, dan surfaktan seperti mannide monooleate yang secara bersamaan dapat memperpanjang pengeluaran antigen yang diinjeksikan [14]. IFA dapat membantu CFA untuk menghasilkan respon sel T helper 1 (Th1) dan sel T helper 2 (Th2) [15]. CFA terdiri atas emulsi air dalam minyak dan terdapat tambahan *Mycobacterium* yang telah dimatikan melalui pemanasan. Muramyl dipeptida merupakan komponen aktif yang terdapat pada dinding sel bakteri dapat mengaktifkan respon sel imun bawaan seperti sel dendritik dan makrofag [14]. Penelitian yang dilakukan oleh Fontes *et al*. menunjukkan adanya perbedaan komposisi sel imun pada limpa setelah induksi menggunakan CFA dan IFA. Peningkatan jumlah monosit juga diikuti dengan peningkatan kadar IL-6 setelah 3 hari pemberian induksi CFA dan IFA [16].

Induksi CFA dan IFA pada hewan coba model RA menyebabkan aktivasi sistem imun baik imun bawaan maupun adaptif. Pada penyakit RA, inflamasi kronis ditandai dengan tingginya kadar sitokin proinflamasi dalam darah, termasuk TNF- α dan IL-6. Selain menyerang persendian, RA juga dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan dalam tubuh lainnya [17], [18]. Sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 dapat menginisiasi jalur kerusakan jaringan lain karena adanya radikal bebas berupa *reactive oxygen species* (ROS). Penyakit RA dapat juga ditandai dengan adanya stress oksidatif. Stress oksidatif adalah suatu keadaan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan, dimana jumlah radikal bebas lebih banyak apabila dibandingkan dengan antioksidan [17]. Sel imun yang terdapat pada sendi yang mengalami inflamasi seperti makrofag, neutrofil, dan limfosit memiliki kemampuan untuk memproduksi radikal bebas. Peningkatan radikal bebas dapat menyebabkan menurunnya antioksidan endogen dalam tubuh seperti glutathione reductase dan superoxide dismutase [17], [19]

Selama fase aktif dari penyakit RA terjadi peningkatan konsentrasi sitokin inflamasi dalam darah misalnya sitokin TNF- α dan IL-6 dan protein fase akut. Miggiano and Gagliardi menyatakan bahwa peningkatan sitokin dan protein fase akut akan berakibat pada penurunan massa lemak bebas dalam tubuh dengan kehilangan sekitar 15% dari massa sel tubuh sehingga berdampak pada berkurangnya kekuatan otot. Penurunan massa tubuh ini

disebabkan oleh mekanisme peningkatan kadar sitokin. Sitokin proinflamasi pada penyakit RA dapat mengubah status metabolik dan meningkatkan pengeluaran energi melalui katabolisme protein dan metabolisme lemak [20]. Aktivasi limfosit juga menyebabkan peningkatan konsumsi glukosa melalui menstimulasi sebagian besar Glucose-transport protein (GLUT) dan insulin receptors (IR) (Peuhkuri *et al* 2010). Signaling inflamasi oleh sitokin TNF- α juga menyebabkan terjadinya penurunan kadar kolesterol dalam serum darah melalui penghambatan pembentukan *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL) sehingga metabolisme lemak hanya akan membentuk trigliserida saja [21].

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 pada preparat histologi usus mencit model RA (kelompok perlakuan K-) lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan normal. Hal ini disebabkan karena pada penyakit RA terjadi aktivasi sistem imun yang menyebabkan kadar sitokin proinflamasi meningkat. Peningkatan status imunitas melalui peningkatan antibodi dan limfosit T proinflamasi menyebabkan terjadinya inflamasi saluran pencernaan [7]. Peuhkuri *et al.* juga menyatakan bahwa pada kondisi aktifnya signaling inflamasi terjadi peningkatan kadar sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 pada jaringan usus. Absorpsi monosakarida galaktosa juga mengalami kerusakan sebanyak 30% yang disebabkan oleh sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-1 β .

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa mikrostruktur pada preparat histologi usus yang diwarnai dengan HE pada kelompok perlakuan K- mengalami kerusakan pada vilinya berupa pemendekan vili dan vili tidak rapat. Hal ini disebabkan karena adanya peningkatan sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 menyebabkan inflamasi juga pada saluran pencernaan sehingga vili mengalami kerusakan. Penelitian yang dilakukan oleh Rohmah *et al.* menemukan bahwa terdapat perbedaan mikrostruktur pada karakteristik ileum (usus penyerapan) pada tikus dengan perlakuan normal dan tikus model RA. Pada tikus model RA menunjukkan struktur permukaan ileum yang tidak padat dan halus. Pengamatan histologi ileum juga menunjukkan terjadinya kerusakan pada vili pada sel epitel batang yang berfungsi sebagai absorpsi. Peuhkuri *et al.* juga menyatakan bahwa terjadi pengurangan tinggi vili sebagai dampak dari signaling inflamasi.

Pengobatan untuk mengatasi inflamasi pada RA pada umumnya menggunakan obat yang bersifat sebagai immuno supresif, kortikosteroid, dan klorokuin dengan cara kerja memperlambat perkembangan penyakit, pengubah respons biologis untuk mengurangi peradangan, kerusakan struktural sendi, dan obat antiinflamasi. Pemberian obat dalam jangka waktu yang lama akan menimbulkan efek samping yaitu reaksi hipersensitivitas, gangguan fungsi hati dan ginjal, serta penekanan sistem hematopoetik [9]. Diperlukannya obat yang berasal dari bahan alam yang berfungsi sebagai immunosupresan untuk penyakit RA. Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah sirih merah. Sirih merah dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan immunosupresan [22]. Daun sirih merah memiliki senyawa aktif berupa flavonoid, terpenoid, tannin, saponin, dan eugenol yang memiliki aktivitas antioksidan, antidiabetik, antikanker, dan antiinflamasi [22], [23]

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadinya penurunan ekspresi TNF- α dan IL-6 pada preparat histologi usus mencit setelah pemberian ekstrak daun sirih merah dibandingkan dengan mencit model RA. Senyawa aktif dalam ekstrak daun sirih merah berupa flavonoid dapat digunakan sebagai anti-inflamasi karena flavonoid dapat meregulasi nuclear factor kappa B (NF- κ B) yang merupakan faktor transkripsi untuk ekspresi TNF- α . Regulasi oleh flavonoid ini menyebabkan terjadinya penghambatan sekresi sitokin proinflamasi TNF- α [24]. Selain itu, aktivitas antiinflamasi oleh flavonoid melalui penghambatan COX atau lipooxygenase. Penghambatan jalur COX dan lipooxygenase ini secara langsung juga menyebabkan penghambatan akumulasi leukosit sehingga dapat menurunkan sekresi sitokin proinflamasi. Namun terdapat fluktuasi ekspresi TNF- α pada penelitian ini. Hal ini dikarenakan setiap hewan coba memiliki status metabolisme yang berbeda antara satu dengan yang lain [25] dan terdapat eksplorasi dosis dalam suatu penelitian digunakan untuk mencari dosis efektif untuk proses pengobatan [26]. Dosis pada perlakuan P1 dapat menurunkan ekspresi TNF- α namun pada perlakuan P2 mengalami kenaikan ekspresi TNF- α menunjukkan bahwa dosis P1 masih belum dianggap sebagai dosis efektif.

Komponen polifenol seperti flavonoid, tannin, dan asam fenol dilaporkan memiliki peran dalam berbagai efek biologi termasuk sebagai memiliki aktivitas antioksidan. Komponen fenolik pada daun sirih merah dapat menginduksi aktivitas antioksidan endogen glutathione peroxidase hingga 50% [27]. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan primer dengan cara mendonorkan ion hidrogen sehingga ion-ion yang mengalami radikal bebas berubah menjadi stabil. Keadaan ion yang telah stabil menyebabkan menurunnya keadaan stres oksidatif di dalam jaringan. Flavonoid juga dapat berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan cara meningkatkan sintesis enzim antioksidan endogen superoxide dismutase (SOD) [28].

Perbaikan status imunitas berupa penurunan ekspresi sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 dapat memperbaiki mikrostruktur usus. Hal ini ditunjukkan pada pengamatan preparat histologi usus yang diwarnai HE pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak daun sirih merah memiliki vili yang lebih panjang dibandingkan dengan kelompok perlakuan K-. Mikrostruktur pada usus tersebut juga menunjukkan bahwa panjang vili usus mencit yang diobati menggunakan ekstrak daun sirih merah memiliki kondisi yang mendekati normal. Perbaikan kondisi mikrostruktur vili usus disebabkan karena adanya penurunan signaling inflamasi berupa sitokin proinflamasi TNF- α dan IL-6 sehingga terjadi penurunan inflamasi pada saluran pencernaan.

6. Kesimpulan

Rheumatoid arthritis (RA) adalah penyakit autoimunitas yang menyebabkan inflamasi kronis pada synovial sendi. Sirih merah dapat digunakan sebagai antiinflamasi dan immunosupresan yang dapat digunakan sebagai pengobatan penyakit RA. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak daun sirih merah dapat dijadikan kandidat obat untuk penyakit Rheumatoid arthritis dengan dosis efektif yaitu pada dosis 400 mg/kgBB.

Konflik kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tulisan ini bebas dari konflik kepentingan.

Ucapan terima kasih

Penelitian ini didanai oleh PNPB UM 2018 dengan nomor kontrak 1.3.84/UN32.14/LT/2018. Kami juga mengucapkan pada Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi UM yang sudah menyediakan tempat penelitian.

Referensi

- [1] J. A. Singh *et al.*, "2012 Update of the 2008 American College of Rheumatology recommendations for the use of disease-modifying antirheumatic drugs and biologic agents in the treatment of rheumatoid arthritis: 2012 ACR RA Treatment Recommendations," *Arthritis Care & Research*, vol. 64, no. 5, pp. 625–639, May 2012.
- [2] I. Rudan *et al.*, "Prevalence of rheumatoid arthritis in low- and middle-income countries: A systematic review and analysis," *Journal of Global Health*, vol. 5, no. 1, pp. 1–10, 2015.
- [3] M. Elsi, "Gambaran Faktor Dominan Pencetus Arthritis Rheumatoid Di Wilayah Kerja Puskesmas Danguang Danguang Payakumbuh Tahun 2018," *MENARA Ilmu*, vol. XII, no. 8, pp. 98–106, 2018.
- [4] G. . Miggiano and L. Gagliardi, "Diet, Nutrition and Rheumatoid Arthritis," *Clin Ter*, vol. 156, no. 3, pp. 115–123, 2005.
- [5] M. Cutolo and E. Nikiphorou, "Don't neglect nutrition in rheumatoid arthritis!," *RMD Open*, vol. 4, no. 1, p. e000591, Feb. 2018.
- [6] H. Carvalheiro, J. A. P. da Silva, and M. M. Souto-Carneiro, "Potential roles for CD8+ T cells in rheumatoid arthritis," *Autoimmunity Reviews*, vol. 12, no. 3, pp. 401–409, Jan. 2013.
- [7] R. N. Rohmah, E. Widjajanto, and F. Fatchiyah, "Protective effect of CSN1S2 protein of goat milk on ileum microstructure and inflammation in rat-CFA-induced rheumatoid arthritis," *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, vol. 5, no. 7, pp. 564–568, Jul. 2015.
- [8] K. Peuhkuri, "Even low-grade inflammation impacts on small intestinal function," *World Journal of Gastroenterology*, vol. 16, no. 9, p. 1057, 2010.
- [9] P. . Wilmana and S. Gan, *Analgesik-Antiparetik, Analgesik Anti- Inflamasi Nonsteroid, dan Obat gangguan Sendi Lainnya*. Jakarta: FKUI press, 2012.
- [10] M. Alfarabi, M. Bintang, Suryani, and M. Safithri, "The Comparative Ability of Antioxidant Activity of Piper crocatum in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging," *HAYATI Journal of Biosciences*, vol. 17, no. 4, pp. 201–204, Dec. 2010.
- [11] D. Pradhan, D. K. A. Suri, D. D. K. Pradhan, and P. Biswasroy, "Golden Heart of the Nature: Piper betle L.," *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 1, no. 6, pp. 147–167, 2013.

- [12] C. R. Kensil, "Current vaccine adjuvants: an overview of a diverse class," *Frontiers in Bioscience*, vol. 9, no. 1–3, p. 2972, 2004.
- [13] D. j. Marciani, "Vaccine adjuvants: role and mechanisms of action in vaccine immunogenicity," *Drug Discovery Today*, vol. 8, no. 20, pp. 934–943, 2003.
- [14] T. Kindt, R. . Goldsby, and B. . Osborne, *Kuby, Immunology 6th ed.* New York: W.H. Freeman and Co., 2007.
- [15] N. Petrovsky and J. . Aguilar, "Vaccine Adjuvants: Current State and Future Trends," *Immunology & Cell Biology*, vol. 82, pp. 488–496, 2004.
- [16] J. A. Fontes *et al.*, "Complete Freund's adjuvant induces experimental autoimmune myocarditis by enhancing IL-6 production during initiation of the immune response: IL-6 in the initiation of EAM," *Immunity, Inflammation and Disease*, vol. 5, no. 2, pp. 163–176, Jun. 2017.
- [17] A. Stavropoulos-Kalinoglou, "Muscle wasting in rheumatoid arthritis: The role of oxidative stress," *World Journal of Rheumatology*, vol. 4, no. 3, p. 44, 2014.
- [18] G. Horta-Baas, M. del S. Romero-Figueroa, A. J. Montiel-Jarquín, M. L. Pizano-Zárate, J. García-Mena, and N. Ramírez-Durán, "Intestinal Dysbiosis and Rheumatoid Arthritis: A Link between Gut Microbiota and the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis," *Journal of Immunology Research*, vol. 2017, pp. 1–13, 2017.
- [19] J. He *et al.*, "Dietary intake and risk of rheumatoid arthritis—a cross section multicenter study," *Clinical Rheumatology*, vol. 35, no. 12, pp. 2901–2908, Dec. 2016.
- [20] G. B. Silva, "Micronutrients Deficiencies in Rheumatoid Arthritis Patients," *International Journal of Pathology and Clinical Research*, vol. 2, no. 1, Mar. 2016.
- [21] K. A. Bresnahan and S. A. Tanumihardjo, "Undernutrition, the Acute Phase Response to Infection, and Its Effects on Micronutrient Status Indicators," *Advances in Nutrition*, vol. 5, no. 6, pp. 702–711, Nov. 2014.
- [22] S. A. Bhalerao *et al.*, "Phytochemistry, Pharmacological profile and Therapeutic Uses of Piper betle Linn. - An Overview," *Research and Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 1, no. 2, p. 10, 2013.
- [23] B. Sudewo, *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: Agromedia Pustaka, 2010.
- [24] C. Gardi *et al.*, "Quercetin reduced inflammation and increased antioxidant defense in rat adjuvant arthritis," *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 583, pp. 150–157, Oct. 2015.
- [25] K. Healy, L. McNally, G. D. Ruxton, N. Cooper, and A. L. Jackson, "Metabolic rate and body size are linked with perception of temporal information," *Animal Behaviour*, vol. 86, no. 4, pp. 685–696, Oct. 2013.
- [26] V. Sharma and J. H. McNeill, "To scale or not to scale: the principles of dose extrapolation," *British Journal of Pharmacology*, vol. 157, no. 6, pp. 907–921, Jul. 2009.
- [27] B. Alam *et al.*, "Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of Piper betle leaves," vol. 3, no. 2, p. 14, 2013.
- [28] V. P. Bykerk *et al.*, "Canadian Rheumatology Association Recommendations for Pharmacological Management of Rheumatoid Arthritis with Traditional and Biologic Disease-modifying Antirheumatic Drugs," *The Journal of Rheumatology*, vol. 39, no. 8, pp. 1559–1582, Aug. 2012.