

Ekstrak Buah Delima Terstandar Menurunkan Derajat Fibrosis Hati pada Hewan Model Tikus Putih

(STANDARDIZED POMEGRANATE FRUIT EXTRACT REDUCES LIVER FIBROSIS DEGREE ON ALBINO RATS (*RATTUS NORVEGICUS*) AS AN ANIMAL MODEL)

Wiwik Misaco Yuniarti¹, Retno Handajani²,
Hernomo Ontoseno Kusumobroto³, Ketut Sudiana²

¹Departemen Klinik Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga,
Kampus C Unair, Jln Mulyorejo, Surabaya.

(031) 5927832 / 081 134 037 49 / Email : wiwikmisaco@yahoo.com

²Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya.

³RSUD Dr. Soetomo, Surabaya

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis pengaruh ekstrak buah delima pada fibrosis hati akibat obstruksi bilier. Fibrosis hati diinduksi dengan teknik *bile duct ligation* (BDL) dan analisis pengaruh pemberian ekstrak buah delima terstandar dilakukan terhadap kolagen tipe I dan derajat fibrosis hati. Sebanyak 32 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), umur 2,5 bulan dan memiliki kisaran bobot badan 160-190 gram dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Kelompok pertama (P0) adalah kelompok tikus laparotomi yang diberi larutan *carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,3% sebanyak 2 mL. Tiga kelompok yang lain adalah kelompok yang dilaparotomi dan *bile duct ligation* (BDL), tetapi mendapat perlakuan yang berbeda. Kelompok P1 diberi larutan *carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,3%, P2 diberi ekstrak buah delima terstandar 150 mg/kgbb/per oral/hari dalam CMC 0,3% dan P3 diberi *ellagic acid* (EA) 60 mg/kgbb/per oral/hari dengan volume yang sama. Pemberian perlakuan dilakukan hari kedua setelah BDL dan diberikan selama 21 hari. Hati dieksisi satu hari setelah pemberian terakhir. Pemeriksaan dilakukan terhadap ketebalan kolagen tipe I dan derajat fibrosis hati yang terjadi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah delima terstandar dapat menghambat ekspresi kolagen tipe I pada kelompok P2 dan P3 bila dibandingkan dengan kelompok P1 ($p < 0,05$). Pemberian ekstrak buah delima terstandar secara signifikan juga dapat menghambat perkembangan fibrosis hati bila dibandingkan dengan P1. Derajat fibrosis hati tidak berbeda nyata antara P2 dengan P3 dan antara P3 dengan P1 ($p > 0,05$). Pemberian ekstrak buah delima (150 mg/kgbb/per oral/hari) memiliki efek antifibrotik dengan cara menghambat peningkatan ekspresi kolagen tipe I dan derajat fibrosis hati.

Kata kunci : buah delima, kolagen tipe I, derajat fibrosis.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyse the effect of standardized pomegranate fruit extract on liver fibrosis due to biliary obstruction. Liver fibrosis was induced with bile duct ligation (BDL) technique. Examinations were performed on the expressions of collagen type 1 and the degree of liver fibrosis. Thirty two male albino rats (*Rattus norvegicus*), 2.5 month old, weighing 160-190 grams were divided into four experimental groups. The first group (P0) consisted of rats which underwent laparotomy and treated with 2 ml of *carboxymethyl cellulose* (CMC) 0.3%. Three other groups consisted of rats which underwent laparotomy and bile duct ligation (BDL) but received different treatments. Group P1 was given *carboxymethyl cellulose* (CMC) 0.3%, P2 was treated with standardized pomegranate fruit extract 150 mg/kgBW/po/day within CMC 0.3%, and P3 was given *ellagic acid* (EA) 60 mg/kgBW/po/day of equal volume. Treatments were administered on the second day after BDL for 21 days. The livers were excised one day after the last administration. Observations were made on the expressions of collagen type 1 and the degree of liver fibrosis. The results showed that standardized pomegranate extract can inhibit the expression of collagen type I significantly in the P2 and P3 compared with P1 group ($p < 0.05$). Treatment with standardized pomegranate fruit extract also significantly suppressed the progression of liver fibrosis compared to P1, even though there was more liver fibrosis compared to P0 ($p < 0,05$). The degree of liver fibrosis was not significantly different between P2 and P3, and between P3 and P1 ($p > 0,05$). The administration of standardized pomegranate fruit extract 150 mg/kgBW/po/day exerted antifibrotic effect by inhibiting the increase the expression of collagen type I and the degree of liver fibrosis.

Keywords: pomegranate fruit, collagen type I, degree of liver fibrosis.

PENDAHULUAN

Kolestasis merupakan salah satu penyebab penyakit hati kronis, yang akan berkembang menjadi fibrosis dan sirosis hati. Hingga saat ini belum ditemukan terapi standar yang benar-benar efektif untuk mencegah atau mengobatinya (Oh *et al.*, 2003). Oleh karena itu, saat ini masih dilakukan berbagai penelitian untuk mencari alternatif pengobatan, baik menggunakan senyawa kimia maupun tanaman yang diduga memiliki aktivitas antifibrotik.

Salah satu tanaman obat yang banyak diteliti manfaatnya adalah delima (*Punica granatum*). Sari buah dan kulit buah delima telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas lainnya adalah sebagai antikanker yang diduga terjadi karena bahan aktif yang dikandung dapat menghambat proliferasi sel tumor, siklus sel, invasi ke dalam jaringan sekitar, dan angiogenesis. Fakta ini tentu saja berhubungan dengan kemampuan delima dalam berperan sebagai antiinflamasi. Aksi farmakologi dan fitokimia sebagian besar komponen buah delima diduga memiliki aplikasi klinis untuk terapi dan pencegahan terhadap kanker atau penyakit lain yang disebabkan oleh reaksi inflamasi kronis (Lansky dan Newman, 2007).

Delima telah terbukti menurunkan kadar *alkaline phosphatase* (ALP), *gamma glutamyl transpeptidase* (GGT) pada tikus sebagai hewan model fibrosis hati dengan teknik *bile duct ligation* (BDL) (Yuniarti, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, buah delima diduga dapat dimanfaatkan sebagai agen antifibrotik pada penderita fibrosis hati. Proses fibrosis hati selalu disertai dengan respons inflamasi dan stres oksidatif akibat jejas yang diterima. Sementara, buah delima telah terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah delima terstandar yang mengandung 40% *ellagic acid* terhadap ekspresi kolagen tipe I dan derajat fibrosis hati pada tikus putih sebagai hewan model dengan teknik *bile duct ligation*.

METODE PENELITIAN

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan sebanyak 32 ekor, berumur 2,5 bulan dengan bobot badan antara 160–190 gram yang telah

disapah dari induknya diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu sebelum digunakan sebagai sampel penelitian. Tikus-tikus putih tersebut dibagi menjadi empat kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari delapan ekor tikus putih. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol tanpa *bile duct ligation* (P0) dengan perlakuan pemberian *sodium carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,3% sebanyak 2 mL. Tiga kelompok yang lain adalah tikus putih yang seluruhnya mengalami *bile duct ligation* dengan perlakuan pemberian CMC 0,3% (P1), ekstrak buah delima terstandar (P2), dan *ellagic acid* (P3) dalam pelarut CMC dengan volume yang sama.

Bile duct ligation dilakukan pada tikus yang sebelumnya dianestesi dengan kombinasi ketamine HCl dan diazepam (100 mg : 5 mg, dengan dosis 1 mL / kg bb intramuskuler). Insisi dilakukan pada *midline* abdomen sepanjang kurang lebih setengah dari jarak antara bagian abdomen posterior dengan *cartilago xyphoideus*. Pada saluran empedu yang terletak 0,5–1 cm dari dinding duodenum, dibuat dua ligasi dengan jarak kurang lebih 0,3 cm menggunakan *prolene 7/0*. Bagian yang terletak di antara dua ligasi dipotong untuk mendapatkan kondisi obstruksi total pada saluran empedu. Selanjutnya saluran empedu yang telah terikat dan terpotong dikembalikan ke dalam rongga abdomen. Muskulus dan kulit abdomen yang telah diinsisi ditutup kembali dengan jahitan terputus menggunakan *catgut 4/0* dan *prolene 4/0* (Brandoni dan Tores, 2009).

Dosis *ellagic acid* yang diberikan adalah 60 g/kg bb/peroral/hari, diberikan selama 21 hari. Berdasarkan kandungan 40% *ellagic acid* (EA) yang terdapat dalam ekstrak buah delima, maka dosis ekstrak buah delima yang diberikan adalah 150 mg/kg bb/peroral/hari, dengan volume pemberian maksimal 2 mL, selama 21 hari (Beaussier *et al.*, 2006 ; Devipriya *et al.*, 2007). Ekstrak buah delima terstandar yang mengandung 40% *ellagic acid* dan 90% *ellagic acid* yang dipakai dalam penelitian ini adalah produk komersial (*Xi'an Biof Bio-Technology Co., Ltd. Gaoxin Distric of Xi'an, People Republic of China*).

Eksisi hati dilakukan sehari setelah perlakuan berakhir. Pengambilan jaringan hati dilakukan melalui laparotomi. Laparotomi dilakukan setelah hewan percobaan dianestesi dengan kombinasi ketamine HCl dan diazepam (100 mg : 5 mg, dengan dosis 0,5 mL/kg bb intramuskuler). Pembuatan preparat dengan teknik imunohistokimia *streptavidin-biotin*

dilakukan untuk pemeriksaan ekspresi kolagen tipe I (*Bioworld Technology, USA, Cat No. BS1530*), dan pewarnaan khusus dengan teknik *Trichrome Masson (TM)* dilakukan untuk pemeriksaan derajat fibrosis hati. Bahan untuk pewarnaan TM adalah *Accustain Trichrome Stain Kit* (Sigma, Cat #HT15) yang terdiri dari *Biebrich-Acid Fuchsin Solution (#HT15-1)*, *Phosphomolybdic Acid Solution (#HT15-2)* dan *Phosphotungstic Acid Solution (#HT15-3)*; *Bouin's Solution* (Sigma, Cat #10132-1L); *Weigert's Iron Hematoxylin Set* (Sigma, Cat #HT 10-79). Pemberian skor derajat fibrosis pada hati dilakukan dengan metode *METAVIR* (Brunt, 200) berikut ini :

SkorFibrosis	Deskripsi
0	Tidak terjadi fibrosis
1	Terdapat pembesaran traktus portal tanpa septa
2	Terdapat pembesaran traktus portal dengan beberapa septa
3	Terdapat banyak septa tanpa sirosis
4	Sirosis

Pengumpulan data dilakukan dalam lingkungan yang terkontrol dan terkendali dengan asumsi semua kondisi diusahakan sama dan dapat dikendalikan. Analisis data ekspresi kolagen dilakukan dengan *analysis of variance*, sedangkan untuk data skor derajat fibrosis dilakukan dengan uji Kruskal-Wallis, dengan

tingkat kemaknaan uji sebesar 0,05. Data yang telah dikumpulkan diolah secara manual dan menggunakan perangkat lunak komputer program SPSS 18.00.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum melakukan analisis statistika, terlebih dahulu dilakukan uji homogenitas terhadap subjek penelitian (Tabel1).

Uji homogenitas yang dilakukan dengan menggunakan *Oneway Anova* menunjukkan bahwa bobot badan sebelum dan setelah perlakuan antar kelompok perlakuan memiliki variasi yang homogen ($p = 0,198$ dan $p = 0,102$).

Efek Ekstrak Buah Delima terhadap Ekspresi Kolagen Tipe I

Pemeriksaan preparat pada kelompok P0, tidak tampak jelas ekspresi kolagen tipe I (Gambar 1A). Pada Gambar 1 terlihat bahwa ekspresi kolagen tipe I paling kuat terjadi pada kelompok P1 (Gambar 1B) dan terlihat mengalami hambatan peningkatan setelah pemberian ekstrak buah delima terstandar (Gambar 1C) maupun *ellagic acid* (EA) (Gambar 1D). Hasil pemeriksaan preparat dengan teknik imunohistokimia menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah delima terstandart (P2) maupun *ellagic acid* (EA) (P3) dapat menghambat peningkatan ekspresi kolagen tipe I pada sel-sel penyusun hati. Karena pembuatan hewan model fibrosis hati menggunakan teknik *bile duct ligation* (BDL), maka distribusi

Tabel 1. Uji homogenitas subjek penelitian berdasarkan bobot badan awal dan akhir tikus percobaan

Kelompok (n = 8)	Bobot Badan Awal (g) Mean ± SD	Bobot Badan Akhir (g) Mean ± SD
P0 (laparatomi)	175,00 ± 15,35	195,63 ± 17,61
P1 (laparatomi + BDL)	169,38 ± 16,57	170,63 ± 14,25
P2 (laparatomoi + BDL+ PGL)	186,88 ± 17,10	199,38 ± 28,59
P3 (laparatomi + BDL + EA)	173,75 ± 16,64	190,00 ± 31,17
Total (n = 32)	176,25 ± 16,94	188,91 ± 25,42
F	1,660	2,271
P	0,198	0,102

Keterangan :

BDL: Bile duct ligation

PGL: *Punica granatum Linn.*

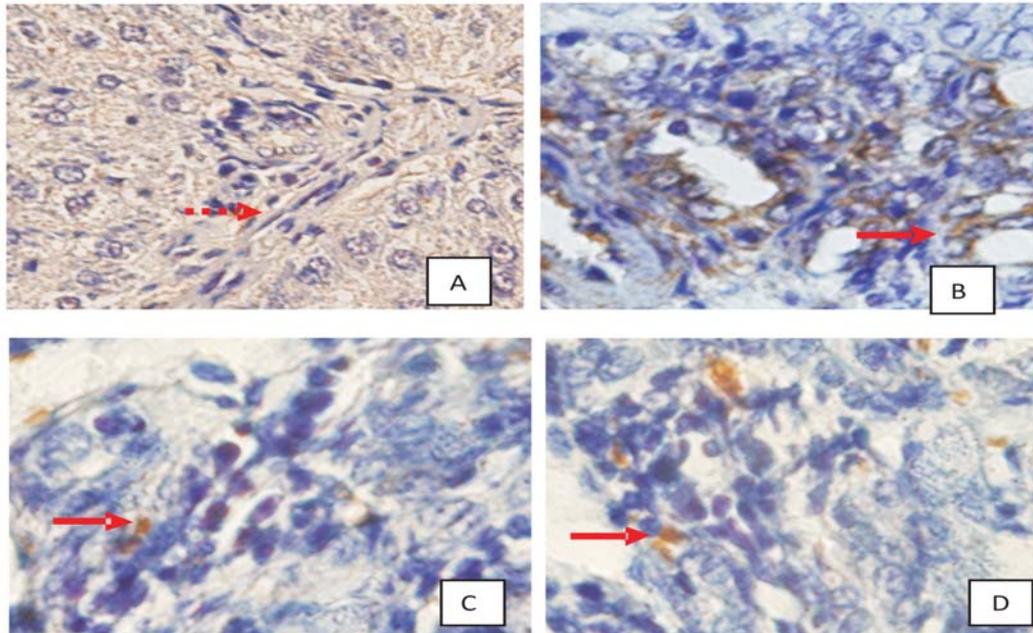
EA : *Ellagic acid*

F : F hitung

P : Nilai signifikansi

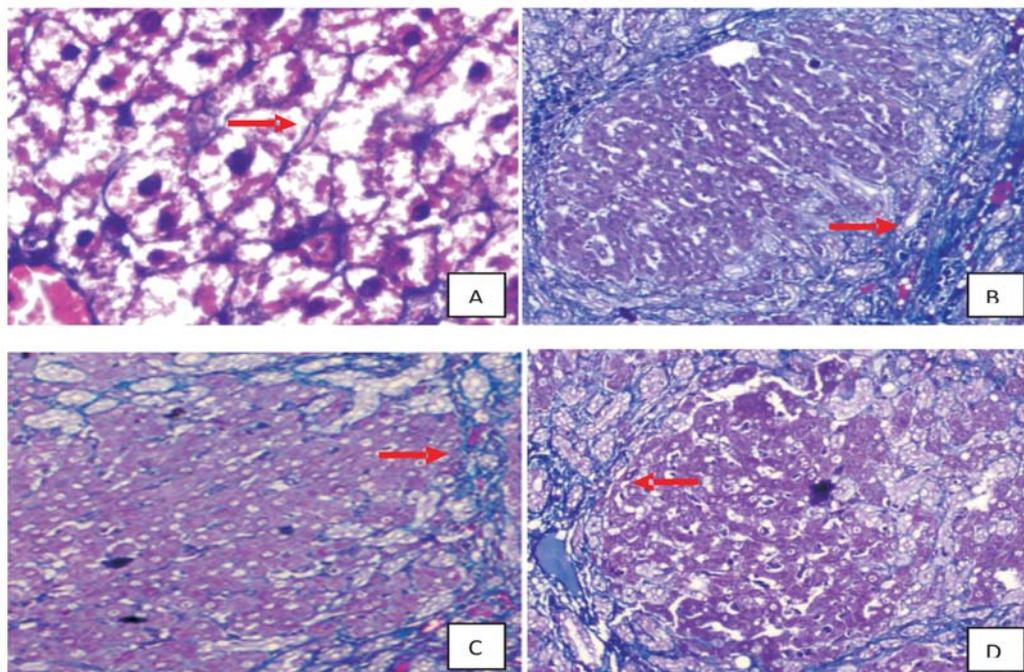
n : Replikasi

SD : Standar deviasi



Keterangan: Ekspresi kolagen tipe I paling kuat terlihat pada kelompok P1 (Gambar B) dan mengalami hambatan peningkatan setelah pemberian ekstrak buah delima terstandar (Gambar C) maupun *ellagic acid* (Gambar D)
 ■■■➤ (Negatif) ➡ (Positif)

Gambar 1. Gambaran ekspresi kolagen tipe I pada hati. (Imunohistokimia dengan antibodi poliklonal terhadap kolagen tipe I, 400X)



Gambar 2. Gambaran Derajat Fibrosis Hati (*Trichrome Masson's*, 100X)
 Pada kelompok P0 terlihat jaringan fibrous normal di sekitar vena sentralis (Gambar A). Pemeriksaan pada kelompok P1, terlihat pembentukan septa fibrosis, *bridging* fibrosis, dan perubahan arsitektur hati (Gambar B). Pada kelompok P2 dan P3 terjadi penurunan jaringan fibrosis hati (Gambar C dan D). ➡ Septa fibrosis

ekspresi kolagen tipe I paling banyak terdapat di sekitar duktus bilier yang mengalami proliferasi pada area periportal.

Hasil analisis terhadap ekspresi kolagen tipe I menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara P0 dengan P1, P2 dan P3 ($p < 0,05$), tetapi antara P2 dan P3 tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) Tabel 2.

Hasil pemeriksaan preparat dengan teknik imunohistokimia menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah delima terstandar (P2) dapat menurunkan ekspresi kolagen tipe I pada hati. Penurunan ekspresi kolagen tipe I pada kelompok P2 ($2,53 \pm 0,43$) berbeda secara signifikan bila dibandingkan dengan kelompok P0 ($0,00 \pm 0,00$) dan P1 ($5,19 \pm 0,72$) ($p < 0,05$), namun tidak dengan kelompok P3 ($2,73 \pm 0,68$) ($p > 0,05$).

Fibrosis hati terjadi karena peningkatan sintesis kolagen. *Hydroxyproline* adalah senyawa karakteristik kolagen yang disekresikan oleh *hepatic stellate cells* (HSCs) yang teraktivasi. Oleh karena itu, jumlah kolagen dapat digunakan sebagai indikator derajat fibrosis hati yang terjadi (Zhang *et al.*, 2008). Penelitian ini menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan ketebalan kolagen tipe I pada kelompok P1 bila dibandingkan dengan kelompok P0, P2, dan P3. Namun, tidak terdapat perbedaan ketebalan kolagen tipe I antara kelompok P2 dan P3. Hasil ini telah dibandingkan dengan hasil skoring derajat fibrosis hati pada preparat yang diwarnai dengan teknik pewarnaan *Trichrome Masson's*, dan jaringan ikat terwarnai biru pada sediaan. Hasil menunjukkan bahwa EA dan ekstrak buah delima terstandar dapat mengurangi deposisi dan mencegah perkembangan fibrosis hati lebih lanjut. Ekstrak buah delima terstandar memberikan hasil yang baik sebagaimana pemberian EA.

Tabel 2. Rataan ekspresi kolagen tipe I pada hewan percobaan tikus putih

Kelompok (n = 8)	Kolagen I
P0 (laparatomi)	0,00 ^a ± 0,00
P1 (laparatomi + BDL)	5,19 ^c ± 0,72
P2 (laparatomi +BDL + PGL)	2,53 ^b ± 0,43
P3 (laparatomi + BDL + EA)	2,73 ^b ± 0,68

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda nyata ($p < 0,05$)

Hepatic stellate cells yang teraktivasi akan berubah menjadi *myofibroblast like cells*, yang berperan dalam proses peningkatan deposisi kolagen. Bila kolagen tipe I mengalami penurunan, berarti telah terjadi penurunan jumlah HSCs yang teraktivasi atau regresi HSCs ke dalam status tidak aktif (*quiescent*) (Iradale, 2001). Penurunan deposisi kolagen tipe I yang diproduksi oleh HSCs juga melibatkan aktivitas kelompok *matrix metalloproteinases* (MMPs) (Han, 2006).

Aktivitas *matrix metalloproteinases* (MMPs) dan perkembangan fibrosis hati diatur melalui ekspresi *tissue inhibitor metalloproteinases* (TIMPs) yang secara simultan juga dihasilkan oleh HSCs untuk menghambat aktivitas MMPs dalam mendegradasi matriks ekstraseluler (Iradale, 2001). Selama proses resolusi fibrosis, kadar TIMPs mengalami penurunan, sementara aktivitas MMPs dan apoptosis HSCs mengalami peningkatan (Woesner, 1991). Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak dilakukannya pengukuran terhadap aktivitas MMP-1, ekspresi TIMP-1 dan aktivitasnya.

Efek Ekstrak Buah Delima Terstandar terhadap Derajat Fibrosis Hati

Evaluasi derajat fibrosis dengan menggunakan *METAVIR system* menunjukkan bahwa pada kelompok P0 (kelompok tikus putih laparatomi yang diberi larutan CMC 0,3% dan diobservasi tiga minggu setelah perlakuan), terdapat gambaran jaringan fibrous di sekitar vena sentralis dengan rata-rata skor derajat fibrosis 1,000 (Gambar 2A). Sementara itu, pemeriksaan preparat hati pada kelompok P1 menunjukkan peningkatan jaringan fibrosis pada hati. Perubahan tersebut ditandai dengan terbentuknya septa fibrosis yang disertai dengan *bridging* fibrosis, perubahan arsitektur hati berupa hilangnya bentuk lobulus hati normal dengan rata-rata skor derajat fibrosis 2,625 (Gambar 2B). Sementara pengamatan pada kelompok P2 dan P3 menunjukkan penurunan jaringan fibrosis hati bila dibandingkan dengan kelompok P1 dengan skor derajat fibrosis masing-masing 1,875 dan 2,250 (Gambar 2C dan 2D).

Derajat fibrosis pada kelompok P2 merupakan yang terendah dan nyata lebih parah bila dibandingkan dengan kelompok P1 ($p < 0,05$), namun fibrosis yang terjadi tidak berbeda dengan kelompok P3 ($p > 0,05$) Demikian juga untuk kelompok P3, fibrosis yang terjadi yang

tidak berbeda nyata dengan kelompok P1. Perbandingan rata-rata hasil skoring derajat fibrosis pada jaringan hati hewan percobaan disajikan pada Gambar 2 dan Tabel 3. Hasil pengamatan juga menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah delima mampu menurunkan progresivitas proliferasi saluran empedu. Proliferasi saluran empedu terlihat paling progresif pada kelompok P1 dan terlihat berkurang pada kelompok P3 dan P2.

Bile duct ligation pada tikus merupakan model yang ideal bila ditinjau dari aspek klinis maupun histopatologi untuk menggambarkan fibrosis hati sekunder hingga obstruksi bilier ekstrahepatik pada manusia (Soylu *et al.*, 2006).

Perbaikan fibrosis hati pada umumnya berhubungan dengan penurunan reaksi nekroinflamasi. Namun, tidak semua hasil penelitian mengindikasikan bahwa penurunan derajat fibrosis disebabkan karena penurunan reaksi nekroinflamasi. Penelitian tentang pemberian kombinasi vitamin C dan E menunjukkan bahwa walaupun terjadi penurunan derajat fibrosis, tetapi tidak disertai dengan perbaikan inflamasi pada penderita *nonalcoholic steatohepatitis* (NASH) (Harrison *et al.*, 2003).

Selain melalui jalur inflamasi, aktivitas antifibrotik juga dapat terjadi melalui aktivitas lain yang mengganggu proses fibrogenesis, seperti efek antifibrotik *sylimarin* yang terjadi melalui penurunan regulasi sintesis kolagen tipe I (Jia *et al.*, 2001). *Ellagic acid* memiliki kemampuan untuk menginduksi apoptosis *pancreatic stellate cells* (PSCs) (Masamune *et al.*, 2005).

Tanaman atau ekstrak buah adalah campuran berbagai senyawa yang kompleks dan dalam penelitian tidak jelas apakah senyawa tunggal atau campuran senyawa yang bertanggung jawab terhadap efek yang diamati (Schafer *et al.*, 2005). Namun, beberapa penelitian telah membuktikan bahwa senyawa-

senyawa yang terkandung dalam ekstrak buah memiliki kemampuan saling meningkatkan efek biologis masing-masing. Telah dilaporkan bahwa EA dan *quercetin* (keduanya juga terdapat dalam buah delima) yang diberikan secara bersama-sama menunjukkan hambatan yang lebih kuat terhadap pertumbuhan sel kanker daripada bila diberikan secara individual (Seeram *et al.*, 2005).

Polyphenol yang terkandung dalam ekstrak buah delima memiliki aktivitas antioksidan dan hepatoprotektif baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. *Ellagic acid*, *oleanolic acid*, dan *ursolic acid* yang terdapat dalam buah delima telah terbukti memiliki efek hepatoprotektif, baik pada kerusakan hati akut akibat induksi bahan kimia maupun kronis seperti pada kasus fibrosis maupun sirosis hati. Hal ini diduga karena aktivitas bahan-bahan tersebut sebagai agen antioksidan dan atau antiinflamasi (Liu, 2006)

Dalam penelitian ini, pemberian EA dan ekstrak buah delima terstandar dapat menghambat peningkatan derajat fibrosis pada hati. Berdasarkan hasil analisis statistika, antara kelompok yang diberi EA dengan kelompok yang diberi ekstrak buah delima memang tidak berbeda secara signifikan. Namun demikian, mengingat bahwa data yang dianalisis bukan merupakan data kontinyu yang linier, maka perbedaan hasil skoring memberikan implikasi klinis yang cukup penting. Selain itu, pada penelitian yang sama terbukti bahwa aktivitas antiinflamasi yang dimiliki oleh EA tidak sekuat ekstrak buah delima dalam menghambat peningkatan ekspresi *interleukin-6* (IL-6) dan *transforming growth factor-beta 1* (TGF- β 1) (Yuniarti, 2012).

Ellagic acid, senyawa dimer yang merupakan derivat *gallic acid*, berada dalam buah delima dalam bentuk bebas sebagai *ellagic acid-glycosides* atau terikat dalam bentuk *ellagitannins*. Setelah diberikan secara per oral

Tabel 3. Rataan skoring derajat fibrosis hati pada tikus putih

Kelompok (n = 8)	Skoring Derajat Fibrosis Mean \pm SD	Median
P0 (Laparotomi)	1,000 ^a \pm 0,0000	1,00 ^a
P1 (Laparotomi + BDL)	2,625 ^c \pm 0,5175	3,00 ^c
P2 (Laparotomi + BDL + PGL)	1,875 ^b \pm 0,6667	2,00 ^b
P3 (Laparotomi + BDL + EA)	2,250 ^{bc} \pm 0,2949	2,00 ^{bc}

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama berarti berbeda nyata ($p < 0,05$)

kepada tikus, 15% EA diekskresikan dalam bentuk metabolitnya melalui urin dan feses. Rendahnya aktivitas dan konsentrasi EA dalam plasma disebabkan karena kelarutannya yang rendah dalam air. Selain itu juga diduga karena EA mudah mengalami transformasi dan degradasi sebelum diabsorpsi. Metabolisme EA yang tidak larut dalam intestinal disebabkan oleh aktivitas mikroflora yang berada di dalam intestinal. Hasil metabolisme EA adalah *uroolithin* A dan B (Seeram *et al.*, 2004).

Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa bioavailabilitas ekstrak buah delima lebih baik bila dibandingkan dengan pemberian senyawa tunggal secara individual. Hal ini menggambarkan pengaruh multi faktor dan efek sinergis berbagai senyawa yang terkandung dalam buah delima (Seeram *et al.*, 2005). Keberadaan *polyphenol* dalam buah delima dapat meningkatkan kelarutan dan absorpsi *ellagic acid* dalam saluran pencernaan. Selain itu, *polyphenol* yang terdapat dalam ekstrak buah delima juga memiliki kemampuan untuk menghambat metabolisme EA oleh mikroflora intestinal menjadi *urothilin* A dan B melalui aktivitas antibakterial yang dimiliki (Seeram *et al.*, 2006). Konsentrasi EA yang lebih tinggi menyebabkan hambatan proses aktivasi HSCs untuk mensintesis kolagen tipe I, sehingga menyebabkan penurunan derajat fibrosis pada hati.

SIMPULAN

Berdasarkan analisis hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik simpulan bahwa ekstrak buah delima terstandar memiliki efek antifibrotik dengan cara menghambat peningkatan ekspresi kolagen tipe 1 dan perkembangan derajat fibrosis hati pada hewan percobaan.

SARAN

Perlu penelitian lebih lanjut tentang pemanfaatan ekstrak buah delima terstandar, baik dalam optimalisasi bentuk sediaan maupun pemanfaatannya dalam uji preklinik maupun klinik bagi penderita fibrosis hati. Selain itu, juga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menentukan kandungan senyawa lain dalam ekstrak buah delima terstandar yang memiliki kemampuan meningkatkan potensi dan aktivitas *ellagic acid*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terimakasih Rektor Universitas Airlangga, Surabaya atas dukungan biaya penelitian melalui DIPA Universitas Airlangga sesuai dengan Surat Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi Tahun Anggaran 2012 Nomor : 2613/H3/KR/2012, Tanggal 9 Maret 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Beaussier M, Wendum D, Schiffer E, Dumont S, Rey C, Lienhart A, Housset C. 2007. Prominent contribution of portal mesenchymal cells to liver fibrosis in ischemic and obstructive cholestatic injury. *J of Lab Invest* 87:3-14.
- Brandoni A, Tores AM. 2009. Extrahepatic cholestasis model. In : Rigalli A and Di Loreto VE, *Experimental surgical model in the laboratory rat*. 1st Edition, New York, Taylor and Francis Group.
- Brunt EM, 2000. Grading and staging the histopathological lesions of chronic hepatitis : the Knodell histology activity index and beyond. *Hepatology* 31: 241-246.
- Devipriya N, Srinivasan M, Sudheer A R, Menon V P. 2007. Effect of ellagic acid, a natural polyphenol on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance : a drug dose dependent study. *Singapore Med J* 48 (4) : 311-318.
- Han YP. 2006. Matrix metalloproteinases, the pros and cons, in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol*, 21, S88-91.i
- Harrison SA, Torgerson S, Hayashi P, Ward J, Schenker S. 2003. Vitamin E and Vitamin C treatment improves fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol* 98:2485-2490.
- Iradale JP. 2001. Stellate cell behavior during resolution of liver injury. *Semin Liver Dis* 21:427- 436.
- Jia JD, Bauer M, Cho JJ, Ruehl M, Milani S, Boigk G, Riecken EO, Schuppan D. 2001. Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha1(I) and TIMP-1. *J Hepatol* 35: 392-39834

- Jurenka J. 2008. Therapeutic applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A Review. *Alternative medicine review*, 13(21): 128-144.
- Liu SQ, Yu JP, Chen HL, Luo HS, Chen SM, Yu HG. 2006. Therapeutic Effects and Molecular Mechanisms of Ginkgo Biloba Extract on Liver Fibrosis in Rats. *The American J of Chinese Med* 34 (1): 99–114.
- Masamune A, Satoh M, Kikuta K, Suzuki N, Satoh K, Shimosegawa T. 2005. Ellagic acid blocks activation of pancreatic stellate cells. *Biochem pharmacol* 15~70(6) : 869 – 78.
- Oh WY, Pyo S, Lee KR, Lee BK, Shin DH, Cho SI and Lee SM. 2003. Effect of *Holotrichia diomphalia* larvae on liver fibrosis and hepatotoxicity in rats. *J of Ethnophar* 87: 175-180.
- Parola M and Pinzani M. 2009. Hepatic wound repair. *Fibrogenesis and tissue repair* 2(4): 1-6.
- Schafer A, Chovanova Z, Muchova J, Sumegova K, Liptakova A, Durackova Z, Hogger P. 2005. Inhibition of COX-1 and COX-2 activity by plasma of human volunteers after ingestion of French maritime pine bark extract (Pycnogenol). *Biomed Pharmacother* 60(1): 5-9.
- Serram NP, Lee R, Heber D. 2004. Bioavailability of ellagic acid in human plasma after consumption of ellagitannins from pomegranate (*Punica granatum L.*) juice. *Clinica Chimica Acta* 348: 63–68.
- Seeram NP, Lee R, Hardy M, Heber D. 2005. Rapid large scale of ellagitannin pomegranate husk, a by-product of the commercial juice industry. *Separ Purif Technol* 41: 49 – 55.
- Seeram NP, Schulman RN, Heber D. 2006. Pomegranate Ancient Roots to Modern Medicine. 1st Ed. New York, Taylor and Francis Group.
- Soylu AR, Aydogdu N, Basaran UN, Altaner S, Tarcin O, Gedik N, Umit H, Tezel A, Dokmeci G, Baloglu H, Ture M, Kutlu K, Kaymak K. 2006. Antioxidants vitamin E and C attenuate hepatic fibrosis in biliary-obstructed rats. *World J Gastroenterol* 12(42): 6835-6841.
- Woessner JF. 1991. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodelling. *FASEB J* 5:2145–2154.
- Yuniarti WM. 2012. Efek antifibrotik ekstrak buah delima (*Punica granatum l.*) pada fibrosis hati. Disertasi. Surabaya. Universitas Airlangga.
- Zhang BJ, Xu D, Guo Y, Ping J, Chen L, Wang H. 2008. Protection by and Anti-oxidant Mechanism of Berberine against Rat Liver Fibrosis Induced by Multiple Hepatotoxic factors. *J of Clin and Exp Pharmacol and Physiol* 35: 303–309.