

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Kolitis ulseratif

a. Definisi kolitis ulseratif

Inflammatory Bowel Disease (IBD) terbagi dalam menjadi dua yaitu penyakit *crohn* (PC) dan kolitis ulseratif. Kolitis ulserativa (KU) adalah kondisi kronis dan bentuk paling umum dari penyakit radang usus. Kolitis ulseratif dan penyakit *Crohn* merupakan penyakit yang mempunyai fase perjalanan penyakit yaitu fase aktif atau remisi. Pada fase aktif terjadi penurunan asupan nutrisi oral akibat nyeri perut dan anoreksia. Radang mukosa usus dapat disertai dengan diare yang menyebabkan hilangnya protein, darah, mineral, elektrolit dan berbagai elemen dan malabsorpsi nutrisi. Akibatnya, pada fase aktif ini pasien berisiko mengalami malnutrisi (Widodo *et al.*, 2019)

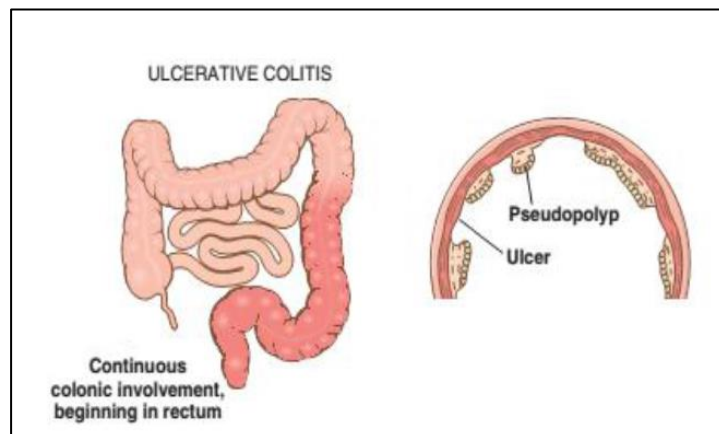
Kolitis ulseratif dapat terlihat dari gejala klinis dengan kolitis ulseratif darah pada feses, lendir, kadang kadang gejala sistemik, nyeri, obstruksi kolon. Dengan pemeriksaan endoskopi adanya lesi kontinu dan adanya keterlibatan rektum. Pemeriksaan radiografi dengan kolitis segmental, kolitis asimetris (Amatullah & Miro, 2021).

Faktor yang dapat menyebabkan kolitis ulseratif yaitu faktor genetik, infeksi, imunologik, psikologik dan lingkungan. Beberapa faktor lingkungan yaitu seperti polusi udara, merokok, keadaan

psikologis, olahraga. Faktor psikologik pada pasien radang usus memiliki kepribadian yng khas yang membuat menjadi rentan terhadap stres emosi yang dapat memunculkan gejala (Siregar, 2021).

b. Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis dibagi menjadi 3 macam terdiri dari manifestasi umum, manifestasi intestinal serta manifestasi ekstraintestinal. Manifestasi umum yaitu penurunan berat badan, demam, penurunan nafsu makan, lemah badan, keringat malam, dan amenorea. Manifestasi intestinal diantaranya diare, diare malam hari, buang air besar berlendir sampai berdarah, dan inkontinensia, konstipasi sampai obstruksi, nyeri perut sampai kram, mual dan muntah. Manifestasi ekstraintestinal seperti manifestasi mata, manifestasi sendi , manifestasi kulit (Siwy & Gosal, 2020).



Gambar 1. Kolitis Ulseratif (Rachmi,2021).

c. Patofisiologi kolitis ulseratif

Patofisiologi pada IBD yaitu inflamasi pada mukosa intestinal dengan mengakibatkan ulserasi, edema, pendarahan, kemudian

hilangnya air serta elektrolit. Mediator proinflamasi dependen seperti *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) dan *interleukin 6* (IL-6), pembentukan radikal bebas yang berlebihan seperti spesies oksigen reaktif (ROS) dan spesies nitrogen reaktif (RNS), penipisan kapasitas antioksidan usus besar, dan hilangnya integritas mukosa (Owusu *et al.*, 2020).

Tumor necrosis factor alpha (TNF- α) dan *interleukin 6* (IL-6) memainkan peran penting dalam patofisiologi penyakit radang usus. TNF- α terlibat dalam peningkatan permeabilitas sel endotel, demam, *algisia*, *cachexia*, dan produksi leukosit dan aktivasi untuk menghasilkan lebih banyak *prostaglandin* (PG). IL-6 merangsang produksi protein fase akut dan aktivasi sistem komplemen sehingga melepaskan C3 dan C5. C5 dan C3 terlibat dalam kemotaksis neutrofil dan aktivasi leukosit untuk melepaskan lebih banyak mediator dan aktivasi sel mast untuk melepaskan histamin dan heparin (Owusu *et al.*, 2020).

Perbedaan antara kolitis ulseratif dan penyakit *crohn* juga berdasarkan pada besarnya lokasi distribusi yang terkena dampak dan ekspresi morfologis dari penyakit di lokasi tersebut. Kolitis ulseratif proses peradangan pada usus besar dan rektum dan meluas ke mukosa dan submukosa, pada penyakit *crohn* juga disebut sebagai enteritis regional karena peradangan melibatkan seluruh mukosa saluran cerna dimulai dari mulut hingga ke anus (Rachmi, 2021).

2. Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis)

a. Klasifikasi Binahong

Secara taksonomi binahong dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Sub divisi	: <i>Spermatophytina</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Bangsa	: <i>Caryophyllales</i>
Suku	: <i>Basellaceae</i>
Marga	: <i>Anredera</i>
Jenis	: <i>CSteenis</i> (BPOM, 2016).

b. Morfologi Binahong



Gambar 2. Gambar Tanaman Binahong

Morfologi pada binahong ialah tumbuh menjalar, panjang dapat mencapai lebih dari 6 m. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna hijau kemerahan atau merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang terbentuk umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, berbentuk jantung, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, daunnya tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin (BPOM, 2016).

c. Kandungan Daun Binahong

Daun binahong memiliki kadar air 4,63 % dan kadar abu 12,46% yang mempunyai kandungan flavonoid, alkaloid polifenol dan saponin sebagai antimikroba. Aktivitas farmakologi dari flavonoid adalah sebagai antiinflamasi, antioksidan dan analgesik, ekstrak daunnya dibuat salep untuk menyembuhkan luka bakar pada kulit (Suparjo *et al.*, 2016). Kandungan kimia dalam ekstrak kental daun binahong meliputi saponin, terpenoid (BPOM, 2016), steroid dan flavonoid: 8-glukopiranosil-4',5,7-trihidroksiflavon;2,4-dihidroksi-6-metoksi-5-formil-3-metilalkon. Kadar flavonoid total tidak kurang dari 8,96% ekuivalen rutin (BPOM, 2016). Aktivitas antioksidan yang terdapat dari ekstrak metanol daun binahong ialah golongan antioksidan kuat terlihat dalam nilai IC_{50} yaitu 53,11 $\mu\text{g/ml}$ (Samirana *et al.*, 2020). Parameter yang diukur untuk mengetahui aktivitas antiinflamasi adalah *interleukin-1 β* (IL-1 β), *tumor necrosis factor* (TNF)- α , nitric oxide (NO) dan IL-6. *Anredera cordifolia* menunjukkan penurunan kadar IL-1 β yang signifikan pada 50 g/mL dan kadar IL-6 pada 10 g/mL (Laksmitawati *et al.*, 2017). Menurut penelitian pada uji antiinflamasi ekstrak daun binahong dengan dosis 126, 252 dan 504 mg/kg BB pada tikus *Sprague Dawley* (n=5) yang diinduksi udem dengan 0,1 ml karagenan 1% subplantar menunjukkan penurunan udem sebesar 5,17; 10,12 dan 1,92%; sedangkan kontrol positif asam mefenamat dosis 63 mg/kg BB sebesar 11% (BPOM, 2016).

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan berdasarkan perbedaan kemampuan kelarutan terhadap dua cairan yang tidak saling larut dan berbeda didalam campuran. Secara garis besar ekstraksi terdapat dua macam, yaitu ekstraksi padat-cair dan ekstraksi cair-cair. Metode ekstraksi yang paling umum yaitu metode maserasi. Maserasi ialah metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Kerugian dari metode maserasi yaitu dapat memakan banyak waktu dan pelarut yang digunakan cukup banyak, serta besar kemungkinan beberapa senyawa dapat hilang, beberapa senyawa mungkin saja akan sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun metode maserasi ini dapat juga menghindari resiko rusaknya senyawa-senyawa dalam tanaman yang bersifat termolabil (kerusakan terjadi perubahan dalam respon terhadap panas) (Badaring *et al.*, 2020).

Metode ekstraksi binahong menggunakan pelarut air dengan metode digesti (infusa). Sebagai contoh untuk aktivitas antioksidan digunakan ekstrak air, sedangkan untuk aktivitas antiinflamasi dan sediaan topikal untuk mengatasi kulit kering digunakan ekstrak etanol dan seterusnya. Tingkat kesulitan dari cara ekstraksi simplisia binahong terutama pada penguapan ekstrak air karena untuk menguapkan air dibutuhkan pemanasan dan waktu yang lebih lama dari pada etanol. Di sisi

lain, zat aktif dari daun binahong adalah glikosida flavonoid yang rentan terhadap panas (BPOM, 2016).

Ekstrak etanol binahong adalah ekstrak yang dibuat dari daun *Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*, memiliki rendemen tidak kurang dari 11,91% dengan kandungan flavonoid total tidak kurang dari 8,96%. Ekstrak yang diperoleh yaitu dengan ekstrak kental, berwarna cokelat keunguan, tidak berbau, dengan rasa agak kelat (BPOM, 2016).

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot simplisia}} \times 100 \% \quad (\text{BPOM, 2016}).$$

Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi daun binahong menggunakan pelarut etanol dikarenakan etanol bersifat polar. Etanol merupakan pelarut terbaik dalam ekstraksi senyawa fenolik, kelebihan pada etanol mampu menyari senyawa kimia lebih banyak dibandingkan dengan air dan metanol. Kadar flavonoid total tertinggi dalam penelitian terdapat pada ekstrak etanol 70% karena dipengaruhi oleh kepolaran pelarut yang dapat dikaitkan dengan penelitian yang mengatakan bahwa kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada pelarut dengan kepolaran sedang. Etanol 70% merupakan pelarut yang lebih polar dari etanol 96% dan lebih non polar dari etanol 50% sehingga senyawa flavonoid yang sifatnya polar akan cenderung terlarut lebih banyak dalam etanol 70%. Etanol mempunyai gugus OH (gugus hidroksil) yang dapat membentuk suatu ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil (OH) dari senyawa flavonoid sehingga mampu menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa flavonoid

dalam etanol. Perbedaan konsentrasi etanol dapat mempengaruhi kelarutan senyawa flavonoid didalam pelarut (Riwanti *et al.*, 2020).

2. Skrining fitokimia

Skrining fitokimia adalah cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa metabolit sekunder suatu bahan alam. Skrining fitokimia ialah tahap awal yang dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu dalam bahan alam yang akan diteliti. Skrining fitokimia dapat dilakukan, baik secara kualitatif, semi kuantitatif, maupun kuantitatif sesuai dengan tujuan yang diinginkan. Metode skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi tertentu. Hal penting yang mempengaruhi dalam proses skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi. Pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna (Vifta & Advistasari, 2018).

Metabolit sekunder ialah flavonoid, alkaloid, tanin, steroid, terpenoid, saponin. Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C₆-C₃-C₆, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin & Ibrahim, 2018). Pada umumnya alkaloida memiliki satu buah atom nitrogen atau lebih dengan sifat basa sehingga disebut alkaloid (Sianipar & Siahaan, 2017).

Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut. Antioksidan dalam pengertian kimia, merupakan senyawa pemberi elektron. Antioksidan bekerja dengan cara mendonorkan satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa terhambat. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Malangngi *et al.*, 2012).

Mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dengan cara kualitatif yaitu dengan beberapa pereaksi warna sehingga menghasilkan warna senyawa metabolit sekunder yang diinginkan. Golongan flavonoid memberikan hasil positif ditandai dengan penambahan serbuk magnesium dengan HCl pekat terjadi warna kuning atau jingga. Golongan alkaloid teridentifikasi pada serbuk simplisia ditandai dengan adanya endapan putih atau putih kekuningan setelah ditambahkan pereaksi *Mayer*, endapan coklat kehitaman setelah ditambahkan pereaksi *Bouchardat* dan endapan merah bata setelah ditambahkan pereaksi *Dragendroff* (Sianipar & Siahaan, 2017)P.

Uji identifikasi tanin menunjukkan hasil positif dengan penambahan pereaksi FeCl_3 terjadi warna biru kehitaman. Pada uji saponin memberikan hasil positif dengan terbentuknya busa setelah dikocok kuat-

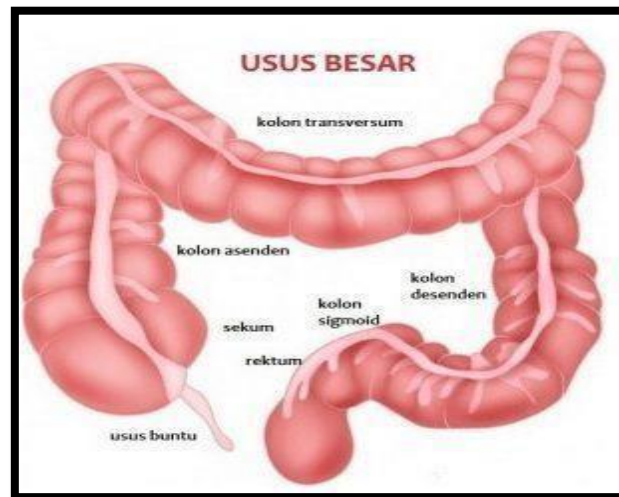
kuat selama 10 menit dan dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N buih/busa tidak hilang. Triterpenoid/steroid memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau biru setelah ditambahkan pereaksi *Liebermann-Burchard* (Sianipar & Siahaan, 2017).

3. Makroskopik Kolon

Usus besar bagian usus buntu dan rektum. Fungsi utama dari organ ini adalah menyerap air dari feses. Kolon adalah tempat cairan dan garam diserap dan memanjang dari sekum ke rektum. Bagian terakhir dari usus besar adalah rektum, yang mana kotoran (bahan limbah) disimpan sebelum meninggalkan tubuh melalui anus. Usus besar atau kolon memiliki panjang 1 meter (Anggraeni, 2020).

Secara makroskopis usus besar dibagi menjadi 6 ialah sekum, kolon asenden, kolon transversum kolon desenden, sigmoid, rektum. Pada Kolitis ulseratif ulkus dapat terjadi pada semua bagian kolon baik, pada sekum, kolon asenden, kolon transversum maupun kolon sigmoid. Secara makroskopik, kolon tampak berulserasi, hiperemik, dan biasanya hemoragik. Keadaan kolitis ulseratif terdapat hilangnya vaskularitas mukosa, eritema difus, kerapuhan mukosa, dan seringkali eksudat yang terdiri dari mukus, darah dan nanah (Anggraeni, 2020).

Sistem pencernaan pada saluran pencernaan mencit, setelah rongga mulut kemudian berlanjut ke esophagus-lambung-intestinum (Duodenum jejunum- ileum) -kolon-rektum dan berakhir di anus. Pada mencit terdapat pula adanya cecum (Nugroho, 2018)



Gambar 3. Usus Besar (Rachmi, 2021).

4. Histopatologi Kolon

Kriteria histopatologi ialah perubahan arsitektur mukosa, perubahan epitel dan perubahan lamina propria. Perubahan arsitektur mukosa meliputi perubahan permukaan, berkurangnya densitas kriptas, gambaran abnormal arsitektur kriptas (distorsi, bercabang, memendek). Pada kolon normal, permukaan datar, kriptas tegak, sejajar, bentuknya sama, jarak antar kriptas sama, dan dasar dekat muskularis mukosa. Sel-sel inflamasi, predominan terletak di bagian atas lamina propria. Gambaran histologi penyakit kolitis ulseratif menjadi kriteria mayor dan minor. Sekurang-kurangnya dua kriteria mayor harus dipenuhi untuk diagnosis kolitis ulseratif. Kriteria mayor kolitis ulseratif yaitu infiltrasi sel radang yang difus pada mukosa, abses kriptas, distorsi kriptas, neutrofil pada seluruh ketebalan mukosa, basal plasmositosis, abses kriptas, kriptitis, permukaan filiformis. Kriteria minor kolitis ulseratif yaitu jumlah sel goblet berkurang (Ariestine, 2008). Pada beberapa penelitian mendapatkan hasil

histopatologi sel kolon pada mencit ditemukan adanya sel-sel radang (jarak sebaran sel radang tersebut masih terdapat satu sel radang) pada lapisan *superficial* yang tersebar difus bahkan ada yang sampai ke lapisan muskularis mukosa, sel-sel radang pada daerah kripta atau terjadi abses pada daerah kripta yang tersebar difus (Aryani, 2015).

5. Model KU dengan induksi asam asetat

Asam asetat dapat berfungsi sebagai penginduksi nyeri karena merupakan senyawa kimia organik golongan asam karboksilat yang biasa digunakan sebagai pemberi rasa masam dalam makanan. Asam asetat dapat menyebabkan reaksi inflamasi akut lokal, dengan pelepasan proton H^+ dan asam arakidonat dari jaringan fosfolipid melalui jalur *siklooksigenase* dan menghasilkan *prostaglandin* dalam cairan peritoneal. *Prostaglandin* itu sendiri dapat menyebabkan nyeri dan dapat meningkatkan permeabilitas kapiler (Firdaus, 2019).

Penggunaan asam setat sebagai penginduksi inflamasi dan nyeri digunakan untuk mengevaluasi agen baru yang bersifat analgesik dan antiinflamasi. Asam asetat sebagai iritan dapat merusak jaringan secara lokal, dengan pemberian secara peritoneal asam asetat merubah pH didalam rongga perut dengan pelepasan proton H^+ dan menyebabkan luka pada membran sel. Fosfolid dari membran sel akan melepas asam arakhidonat yang memproduksi *prostaglandin* dan menimbulkan nyeri. Pemberian asam asetat intrarektal menyebabkan inflamasi kolon yang ditandai dengan peningkatan infiltrasi neutrofil, nekrosis masif lapisan

mukosa dan submukosa, ulserasi submukosa, peningkatan dilatasi pembuluh darah, dan edema. Mekanisme asam asetat masuknya sel-sel inflamasi seperti neutrofil ke dalam usus besar yang terluka, pecahnya penghalang kolon, pelepasan mediator inflamasi seperti sitokin, metabolit asam arakidonat, dan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) yang menghasilkan kerusakan oksidatif yang umum pada kedua penyakit (Owusu *et al.*, 2020).

Pemberian intrarektal larutan encer asam asetat menyebabkan peradangan nontransmural yang ditandai dengan peningkatan infiltrasi neutrofil ke dalam jaringan usus, nekrosis masif lapisan mukosa dan submukosa, dilatasi pembuluh darah, edema dan ulserasi submukosa yang merupakan ciri-ciri penting dari kolitis manusia. Telah diantisipasi bahwa bentuk asam yang terprotonasi membebaskan proton di dalam ruang intraseluler yang mungkin menyebabkan pengasaman intraseluler masif yang mengakibatkan kerusakan epitel yang sangat besar. Ciri khas kolitis yang diinduksi secara eksperimental menggunakan asam asetat pada hewan adalah ketidakseimbangan antara zat oksidan dan antioksidan (Randhawa *et al.*, 2014).

Kurang lebih 1-2 ml dari 3 Larutan asam asetat 6% (v/v) dengan mempertahankan posisi mendatar tikus selama minimal 2 menit juga menyebabkan induksi kolitis (Randhawa *et al.*, 2014). Kolitis ulseratif yang secara eksperimental diinduksi oleh pemberian asam asetat konsentrasi

rendah (biasanya 3-5%) intrarektal adalah model yang dikenal baik untuk studi penyakit radang usus (Owusu *et al.*, 2020).

Di antara model kolitis yang diinduksi bahan kimia, kolitis yang diinduksi *trinitrobenzene sulfonic acid* (TNBS), kolitis yang diinduksi oksazolon dan model kolitis yang diinduksi dekstran sulfat (DSS) paling banyak digunakan. TNBS memunculkan respon imun yang digerakkan oleh Th-1, sedangkan oksazolon secara dominan menunjukkan respon imun fenotipe Th-2. Model kolitis yang diinduksi DSS juga menginduksi perubahan profil sitokin Th-1/Th-2 (Randhawa *et al.*, 2014).

6. Evaluasi Kondisi Kolitis Ulseratif

Usus memiliki triliunan mikroba, beberapa di antaranya masih belum diketahui dan banyak di antaranya tidak dicirikan. Mikrobiota ini merupakan bagian integral dari tubuh kita dan terlibat dalam pengembangan, kekebalan, dan metabolisme inangnya. Ketidakseimbangan dalam mikrobiota usus, atau dysbiosis, berkontribusi pada patogenesis berbagai penyakit seperti IBD, penyakit autoimun, gangguan saraf dan mental, kanker, kencing manis, aterosklerosis dan penyakit jantung (Tian *et al.*, 2016).

Mikrobiota usus sangat penting untuk melihat peradangan di UC. Peradangan dapat terjadi karena gangguan keseimbangan ini, seperti kerusakan fungsi sawar mukosa dan invasi bakteri seperti *Escherichia coli* (*E.coli*). Proporsi yang meningkat dari *E. coli* terdeteksi pada pasien dengan

KU aktif. Studi sebelumnya menunjukkan keterlibatan sel imun bawaan dan didapat, terutama sel dendritik, makrofag, dan limfosit (Tian *et al.*, 2016).

Sitokin antiinflamasi IL-10 (*Interleukin-10*) menciit secara spontan terlibat dalam kolitis, dengan menunjukkan keterlibatan dan potensi terapi dari jalur IL-10. IL-6 adalah sitokin dominan yang ditemukan di daerah inflamasi dari pasien KU dan memiliki peran sentral dalam mengendalikan profil sitokin yang dideregulasi di KU. IL-6 mengkondisikan sel dendritik menuju fungsi proinflamasi dan kadarnya berkorelasi dengan tingkat keparahan penyakit. IL-6 mungkin juga bermanfaat untuk KU karena dapat meningkatkan proliferasi sel epitel yang terlibat dalam mempertahankan fungsi sawar usus. IL-6 diperlukan tidak hanya untuk perkembangan KU tetapi juga untuk perkembangan kanker terkait kolitis. Memblokir fungsi IL-6 dan INF -C adalah salah satu pendekatan yang menjanjikan untuk mengobati KU (Tian *et al.*, 2016).

Gejala yang ditimbulkan pada kolitis ulseratif pada manusia adanya penurunan berat badan, diare dan buang air besar berlendir sampai berdarah dll. Dengan pengecekan indeks aktivitas penyakit kolitis ulseratif pada menciit, dengan penurunan berat badan (%), konsistensi feses, keberadaan darah pada feses. Dengan berturut-turut dengan skor 0, tidak ada, normal, negatif; skor 1 penurunan berat badan 1-5, *loose stools*, negatif; skor 2 penurunana berat badan 5-10, *loose stools*, positif ; skor 3 penurunan berat badan 10-15, diare, positif; skor 4 penurunan berat badan >15, diare, perdarahan kotor (Tian *et al.*, 2016).

7. Tes Perilaku

Penggunaan model hewan uji tidak mampu menggambarkan psikopatologi manusia secara detail, harus benar benar dipahami dengan baik dan benar dengan sistem eksperimental. Dengan memahami apa yang terjadi pada hewan dapat disamakan dengan manusia dengan gejala kurangnya antusiasme dan pergerakan yang lebih lambat dapat mempermudah direplikasikan pada hewan pengerat seperti mencit, tikus atau hewan pengerat lainnya. Metode yang memberikan hewan efek depresi, dengan memberikan perlakuan-perlakuan yang tak terduga sehingga dapat mengakibatkan perubahan perilaku.

a. *Marble Burying Test* (MBT)

Tes perilaku dengan metode MBT (*Marble Burying Test*) dengan perilaku menggali dan mengubur sering digunakan untuk menguji kecemasan dan perilaku berulang pada mencit. Penggalian yang berbeda telah dikembangkan dan telah menjadi tes populer untuk kecemasan, gangguan obsesif-kompulsif (OCD), dan perilaku berulang pada model mencit untuk berbagai kondisi kejiwaan dan neurologis. Menggali adalah perilaku mencit naturalistik, yang dapat difokuskan pada tujuan yang berbeda, yaitu mencari makan, menggali untuk berlindung, mengubur benda (Pond *et al.*, 2021).

Perilaku menggali dan menggali bawaan yang ditunjukkan oleh mencit (*Mus Musculus*) strain yang biasa digunakan di laboratorium adalah indikator berharga dari kesejahteraan dan fungsi

motorik dan ahli saraf telah lama mengukur mereka sebagai tanda nyeri, stres, dan disfungsi neurologis. Peningkatan perilaku menggali sering diartikan sebagai respon berulang karena kecemasan dan paksaan. Perilaku kompulsif diartikan sebagai berlebihan dan terpisah dari proses penyempurna ialah tidak mengarah pada kesenangan atau penghargaan (Pond *et al.*, 2021).

Prosedur MBT (*Marble Burying Test*) dilakukan dengan menyimpan 10 sampai 25 kelereng dalam sangkar atau wadah kotak yang berisikan serbuk gergaji atau bahan serupa. Kelereng biasanya diatur dalam pola kotak dan hewan dapat menjelajahi kandang untuk jangka waktu tertentu biasanya dalam waktu sekitar 30 menit. Jumlah kelereng dan waktu yang dibutuhkan hewan untuk menguburnya harus dioptimalkan untuk memastikan bahwa tes memiliki sensitivitas yang baik dan untuk menghindari pengamatan yang disensor (Lazic, 2015). Pengamatan yang disensor merupakan hewan mengubur semua kelereng yang ada dan tidak diketahui apakah hewan tersebut akan mengubur lebih banyak kelereng yang ada. Contohnya pada suatu perlakuan akan tampak tidak efektif jika hewan dalam kelompok perlakuan dan kelompok kontrol mengubur hampir semua kelereng (Lazic, 2015).

Bila lebih banyak kelereng yang digunakan, maka kelompok kontrol boleh mengubur lebih banyak dari pada kelompok yang diberi perlakuan. Metode dapat digunakan dengan menambah jumlah

kelereng yang digunakan atau mengurangi waktu yang dibutuhkan hewan untuk menguburnya dapat menghilangkan, atau sangat mengurangi, jumlah pengamatan yang disensor (Lazic, 2015).

b. *Tail Suspension Test* (TST)

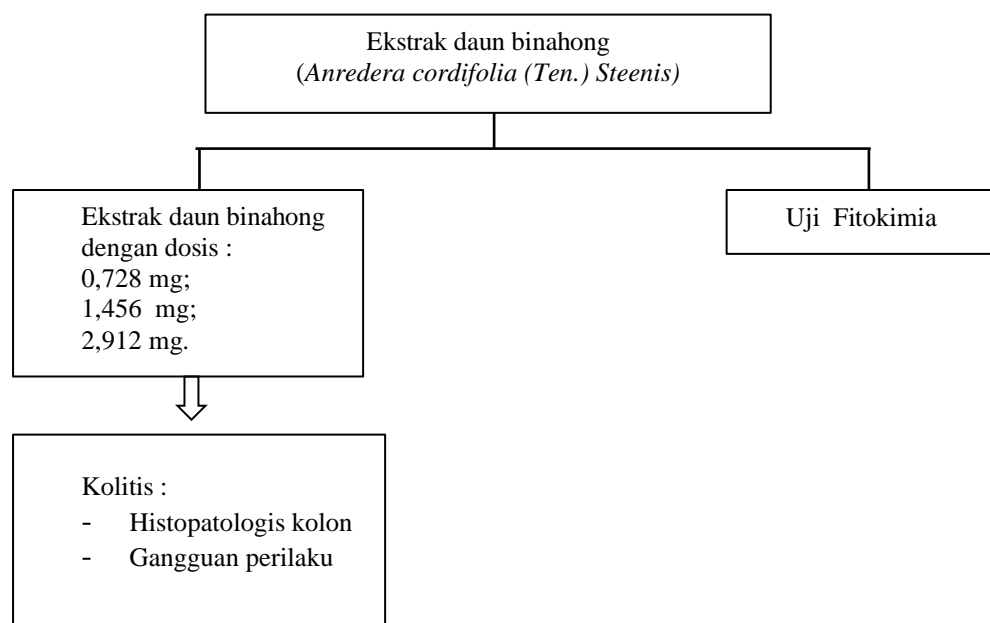
Metode TST (*Tail Suspension Test*) didasarkan pada pengamatan bahwa seekor tikus yang digantungkan pada ekornya menunjukkan periode agitasi dan imobilitas yang bergantian. Prosedur uji baru ini untuk antidepresan dirancang di mana seekor tikus digantung dengan ekornya dari tuas, gerakan hewan itu direkam. Pengamatan terhadap kontrol menunjukkan bahwa tikus yang digantungkan pada alat perekam. Perangkat ini menyediakan rekaman analog pergerakan mencit. Perangkat diatur untuk mengabaikan gerakan pernapasan, dan hanya merekam gerakan tubuh (Steru *et al.*, 1985).

Alat perekam dengan ekornya melakukan upaya melarikan diri yang dapat diklasifikasikan menjadi tiga yaitu gerakan berlari, maju atau mundur, tubuh dengan upaya untuk menangkap ikatan, tubuh tersentak. TST lebih sensitif terhadap dosis obat yang lebih rendah dan memberikan, seperti yang mungkin disarankan dalam beberapa kasus oleh hasil awal ini (Steru *et al.*, 1985).

Dengan mengaitkan ekor mencit pada tiang penjepit dan tubuhnya menggantung di udara. Tes ini membutuhkan waktu sekitar 6 menit. Tes TST dilakukan berdasarkan anggapan bahwa hewan akan

mencoba melarikan diri dari situasi yang penuh tekanan. Setelah beberapa waktu tertentu, hewan akan berhenti berjuang dan pada saat itulah imobilitas terjadi dan dihitung durasinya, durasi imobilitas yang lebih lama adalah tanda perilaku depresi (Safira, 2021).

B. Kerangka Pemikiran



Gambar 4. Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

- $H_0 =$
1. Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) tidak memiliki efektivitas antiinflamasi pada kondisi kolitis ulseratif yang diinduksi asam asetat 3 % pada kondisi kolon.
 2. Ekstrak daun binahong tidak memperbaiki gangguan perilaku pada mencit kondisi KU yang diinduksi asam asetat 3 %.

- H₁=
1. Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten) Steenis*) memiliki efektivitas antiinflamasi pada kondisi kolitis ulseratif yang diinduksi asam asetat 3 % pada kondisi kolon.
 2. Ekstrak daun binahong memperbaiki gangguan perilaku pada mencit kondisi KU yang diinduksi asam asetat 3 %.