

**PENGARUH EKSTRAK L3 NEMATODA *Heligmosomoides polygyrus* TERHADAP PERUBAHAN JUMLAH SEL PMN KOLON MENCIT *Balb/c* MODEL KOLITIS ULSERATIF**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan**

**Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh :**

**MANGKUBUMI PUTRA WIJAYA**

**0910710092**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG**

**2013**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH EKSTRAK L3 NEMATODA *Heligmosomoides polygyrus*  
TERHADAP PERUBAHAN JUMLAH SEL PMN KOLON MENCIT *Balb/c*  
MODEL KOLITIS ULSERATIF

Oleh:

Mangkubumi Putra Wijaya

NIM. 0910710092

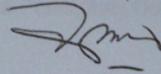
Telah diuji pada

Hari : Senin

Tanggal : 25 Februari 2013

dan dinyatakan lulus oleh:

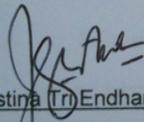
Penguji I



dr. Ati Rastini Retno Indrati, Sp.PK (K)

NIP. 1947907 198002 2 001

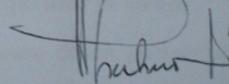
Penguji II/Pembimbing I



Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D

NIP. 19690819 199802 2 001

Penguji III/Pembimbing II

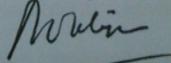


dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA(K)

NIP. 19691028 190702 2 001

Mengetahui:

Ketua Program Studi



Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K

NIP. 19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah SWT. Karena hanya dengan berkah-Nya, penulisan tugas akhir ini dapat selesai. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked) pada program pendidikan dokter umum Universitas Brawijaya Malang.

Dalam proses penulisan tugas akhir ini, penulis juga banyak didukung oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. dr. Karyono M, Sp.PA selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.Par.K selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan masukan mulai dari proses awal pembuatan proposal penelitian, hingga tugas akhir ini selesai.
4. dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA (K) selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis selama penulisan tugas akhir ini.
5. Mas Budi, Mbak Hani, dan Mbak Icha selaku staf laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk keahlian dan ketelatenannya dalam membantu pelaksanaan penelitian.

6. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang khususnya Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt. dan dr. Soemardini, M.Pd.
7. Orang tua saya Bapak dr.Suhardi Hadi Widjojo dan Ibu Binsri Mulatsih S.Pd yang saya sayangi, terimakasih atas doa dan dukungannya baik moral maupun material, kupersembahkan tugas akhir ini untuk kalian.
8. Kakak saya dr.Hamengku Putra Wijaya, terimakasih atas doa dan dukungannya.
9. Saudaraku Jemmy, Willy, Alm.Hendrik ,Wawan dan keluarga, terimakasih atas doa kalian semua.
10. Terima kasih untuk Estiasa Putri Hidiar yang selalu memberi motivasi serta semangat dalam pengerjaan Tugas Akhir ini.
11. Sahabat-sahabatku Adma, Bimo, Bobby, Dimas S, Dije, Diyas, Ego, Felix, dan Hamada, serta teman-teman lain yang telah member semangat yang besar selama pengerjaan Tugas Akhir ini.
12. Teman-teman Doa Ibu : Deftaka, Frengky, Sesar, Shaif, Nico, Ikke, Wina, Dito, Ari, Ajeng, Anggun, Toni, Arni, Arinda, dan Farid terima kasih atas doa kalian semua.
13. Teman-teman Pendidikan Dokter Angkatan 2009 yang selalu kompak dan memberikan suasana yang nyaman dalam menuntut ilmu, semoga kita semua menjadi pribadi yang luhur dan sukses.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu dalam proses penulisan Tugas Akhir selama ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga Tugas Akhir ini dapat diterima dan bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca yang membutuhkan.

Malang, 19 Februari 2013

Penulis



## ABSTRAK

Wijaya, Mangkubumi Putra. 2013. ***Pengaruh Ekstrak L3 Nematoda Heligmosomoides polygyrus Terhadap Perubahan Jumlah Sel PMN Kolon Mencit Balb/c Model Kolitis Ulseratif***. Tugas akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr.Eviana Norahmawati.Sp.PA(K).

Kolitis ulseratif merupakan penyakit autoimun,yaitu penyakit yang disebabkan oleh defek sistem kekebalan tubuh. Kolitis ulseratif biasanya melibatkan rektum dan terbatas pada usus besar, sedangkan penyakit *Crohn*, daerah yang diserang dapat mempengaruhi wilayah di luar saluran pencernaan usus besar. Sel-sel yang berperan penting dalam respon peradangan antara lain adalah sel *Polymorphonuclear* (PMN). Salah satu terapi alternatif yang diberikan sebagai obat adalah menggunakan cacing (*worm therapy*) dengan ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* .Penelitian ini bertujuan untuk menunjukkan bahwa ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dapat menurunkan jumlah sel radang di kolon mencit PMN yang diinduksi 5% DSS. Penelitian ini menggunakan studi *true experimental* dengan *control group design, post test only*. Terdiri dari 5 kelompok,yaitu A,B,C,D,dan E. Masing-masing kelompok empat sampel mencit *Balb/c* dewasa model kolitis dengan 4 kali pengulangan. Pada awal penelitian semua sampel diinduksi 5% DSS kecuali kontrol negatif. Kemudian dilakukan terapi selama 12 minggu pada kelompok C (diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,1 mg/kg BB), kelompok D (diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,2 mg/kg BB), dan kelompok E (diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,4 mg/kg BB). Pada minggu ke 12 mencit dimatikan dan diambil kolonnya untuk kemudian dibuat preparat dari jaringan kolon. Dan dilakukan penghitungan jumlah sel radang PMN menggunakan mikroskop. Hasil uji statistik dari jumlah sel PMN menunjukkan perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) antara kontrol negatif dengan kelompok terapi yang lain. Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dapat menurunkan jumlah sel PMN pada tikus yang diinduksi 5% DSS dengan dosis optimal 0,4 mg/kg BB

Kata kunci : Kolitis ulseratif, nematoda *Heligmosomoides polygyrus*, sel radang PMN

## ABSTRACT

Wijaya, Mangkubumi Putra. 2013. **Effects of L3 *Heligmosomoides polygyrus* Nematodes Extract in PMN Cells Count Changes in *Balb/c* Mice Colitis Ulcerative Model.** The Final Task, Medical Faculty of Brawijaya University. Supervisor : (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr.Eviana Norahmawati, Sp.PA(K).

Ulcerative colitis is an autoimmune disease. The disease is caused by a defective of immune system. Ulcerative colitis involves the rectum and is usually confined to the colon, whereas Crohn's disease, which attacked the area can affect the digestive tract areas outside the colon. The cells that play an important role in response of inflammation is Polymorphonuclear (PMN) cell. One alternative therapy that can given as a drug therapy is worm therapy with extract of L3 *Heligmosomoides polygyrus*. Study aimed to show that an extract of L3 *Heligmosomoides polygyrus* can decrease inflammatory cells (PMN) in mice colon that induced by 5% DSS. This study uses true experimental studies with post test only control group design. The experimental consists of 5 groups, A, B, C, D, and E. Each group of four samples of *Balb/c* mice colitis ulcerative model with 4 repetitions. At the beginning, all of the study samples are induced by DSS 5% except negative control. Then the therapy for 12 weeks in group C (treated by extracts of L3 *Heligmosomoides polygyrus* dose of 0.1 mg / kgBW), group D (treated by extracts of L3 *Heligmosomoides polygyrus* dose 0.2 mg / kgBW), and group E (L3 extract treated by extracts of *Heligmosomoides polygyrus* dose of 0.4 mg / kgBW). At week 12<sup>th</sup>, mice were killed and then take the colon off to make preparations for its colon tissue. And the number of inflammatory cells (PMN) were counted using a microscope. The statistical result of the number of PMN cells showed significant differences ( $p < 0.05$ ) between negative control group of other therapies. The conclusion of this research is *Heligmosomoides polygyrus* L3 extract can reduce the number of PMN cells in mice induced by 5% DSS in optimal dose of 0.4 mg / kgBW.

Keywords: Ulcerative colitis, *Heligmosomoides polygyrus* nematodes, inflammatory cells PMN

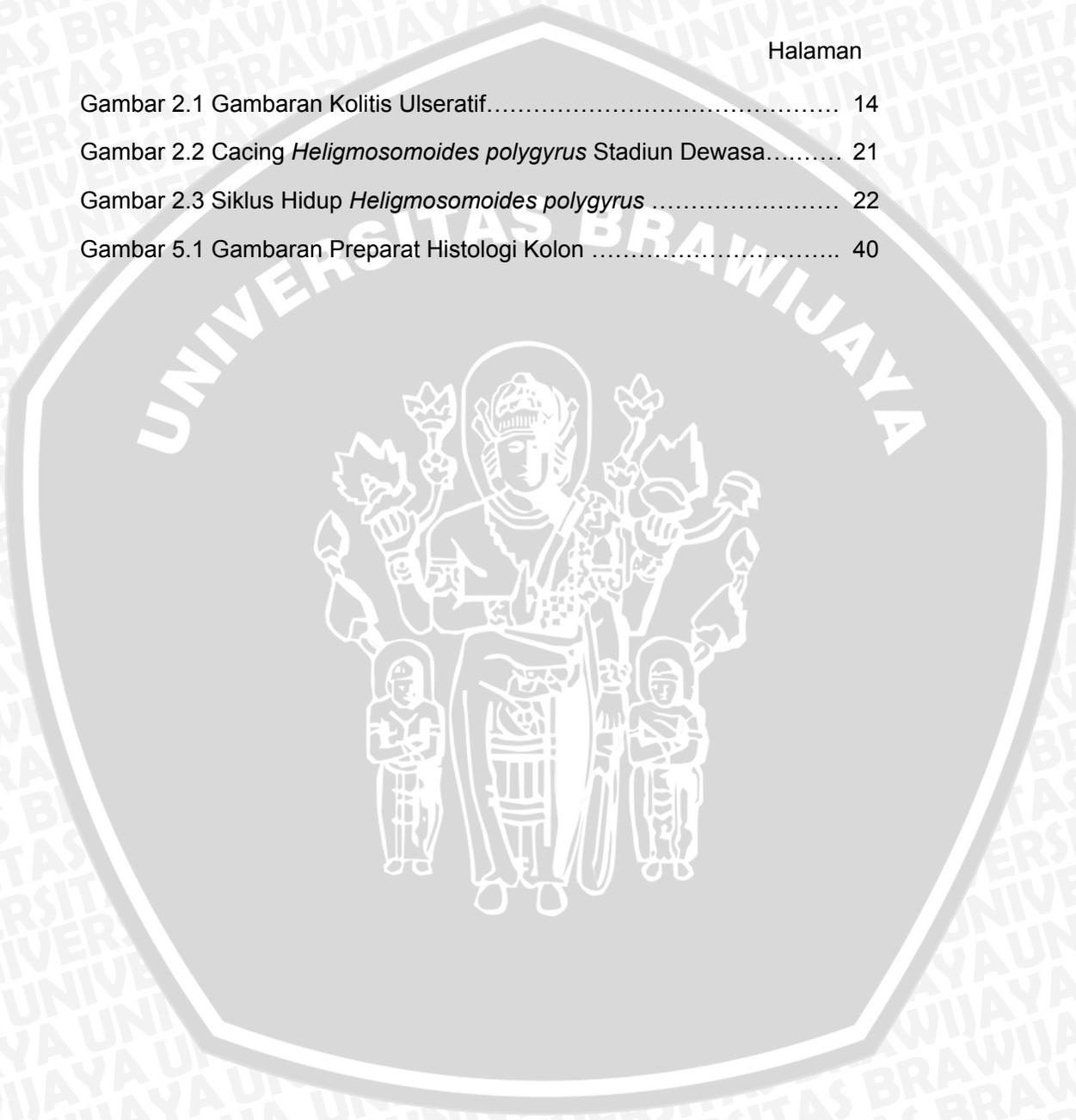
DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Halaman Persetujuan.....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	vi
Abstract .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar Gambar.....	x
Daftar Tabel .....	xi
Daftar Lampiran .....	xii
Daftar Singkatan.....	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
2.3.1 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	5
1.4.1 Akademik.....	5
1.4.2 Praktis .....	5
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Kolitis Ulseratif .....	6
2.1.1 Pengertian Kolitis Ulseratif .....	6
2.1.2 Epidemiologi dan Etiologi .....	7
2.1.3 Patogenesis .....	9
2.1.4 Tanda dan Gejala .....	10
2.1.5 Gambaran Fisik Diagnostik.....	12
2.1.6 Gambaran Histopatologi.....	12
2.2 Kolon.....	15
2.2.1 Pengertian .....	15
2.2.2 Histoanatomi Kolon .....	15
2.3 Immunosuppresant.....	16
2.4 Worm Therapy .....	17
2.5 Heligmosomoides Polygyrus.....	19
2.5.1 Taksonomi .....	19
2.5.2 Pengertian .....	19
2.5.3 Siklus Hidup <i>Heligmosomoides Polygyrus</i> .....	20
2.6 Mekanisme Heligmosomoides polygyrus dalam Menekan Kolitis.....	22

<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP .....</b>	<b>25</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	25
3.2 Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN .....</b>	<b>27</b>
4.1 Sifat Penelitian .....	27
4.2 Rancangan Penelitian .....	27
4.3 Sampel Penelitian .....	27
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	28
4.5 Alur Penelitian .....	28
4.6 Bahan Penelitian .....	29
4.7 Variabel .....	29
4.6.1 Klasifikasi Variabel .....	29
4.6.2 Definisi Operasional Variabel .....	29
4.8 Prosedur Penelitian .....	30
4.7.1 Ekstraksi Nematoda Heligmosomoides polygyrus .....	30
4.7.2 Pembuatan Model Kolitis .....	31
4.7.3 Preparasi Hewan Coba .....	31
4.9 Pegelompokan Subyek Penelitian .....	32
4.10 Isolasi Jaringan Kolon Mencit .....	34
4.10.1 Alat .....	34
4.10.2 Bahan .....	34
4.10.3 Cara Kerja .....	34
4.11 Pembuatan Preparat Kolon dengan Pewarnaan HE .....	35
4.12 Pengolahan dan Analisis Data .....	37
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA .....</b>	<b>38</b>
5.1 Hasil Penelitian .....	39
5.1.1 Jumlah Sel Radang Sel PMN .....	39
5.1.2 Jumlah Sel PMN Menurun Seiring Pertambahan Konsentrasi Ekstrak .....	43
5.2 Analisis Data .....	43
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>49</b>
<b>BAB 7 PENUTUP .....</b>	<b>53</b>
7.1 Kesimpulan .....	53
7.2 Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>59</b>

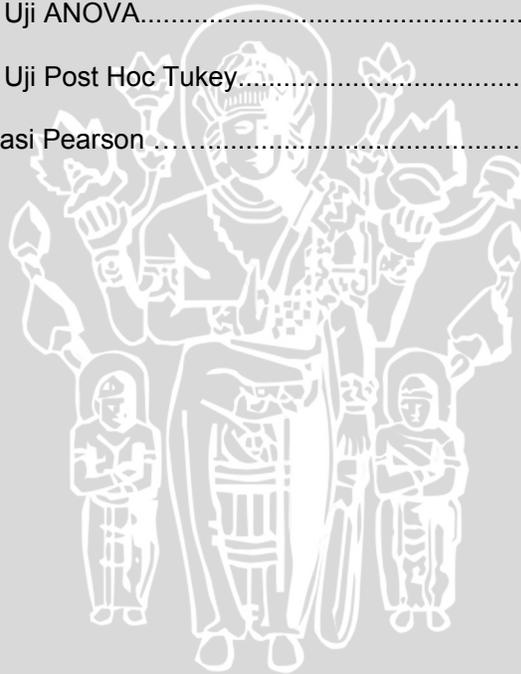
## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Gambaran Kolitis Ulseratif.....	14
Gambar 2.2 Cacing <i>Heligmosomoides polygyrus</i> Stadium Dewasa.....	21
Gambar 2.3 Siklus Hidup <i>Heligmosomoides polygyrus</i> .....	22
Gambar 5.1 Gambaran Preparat Histologi Kolon .....	40



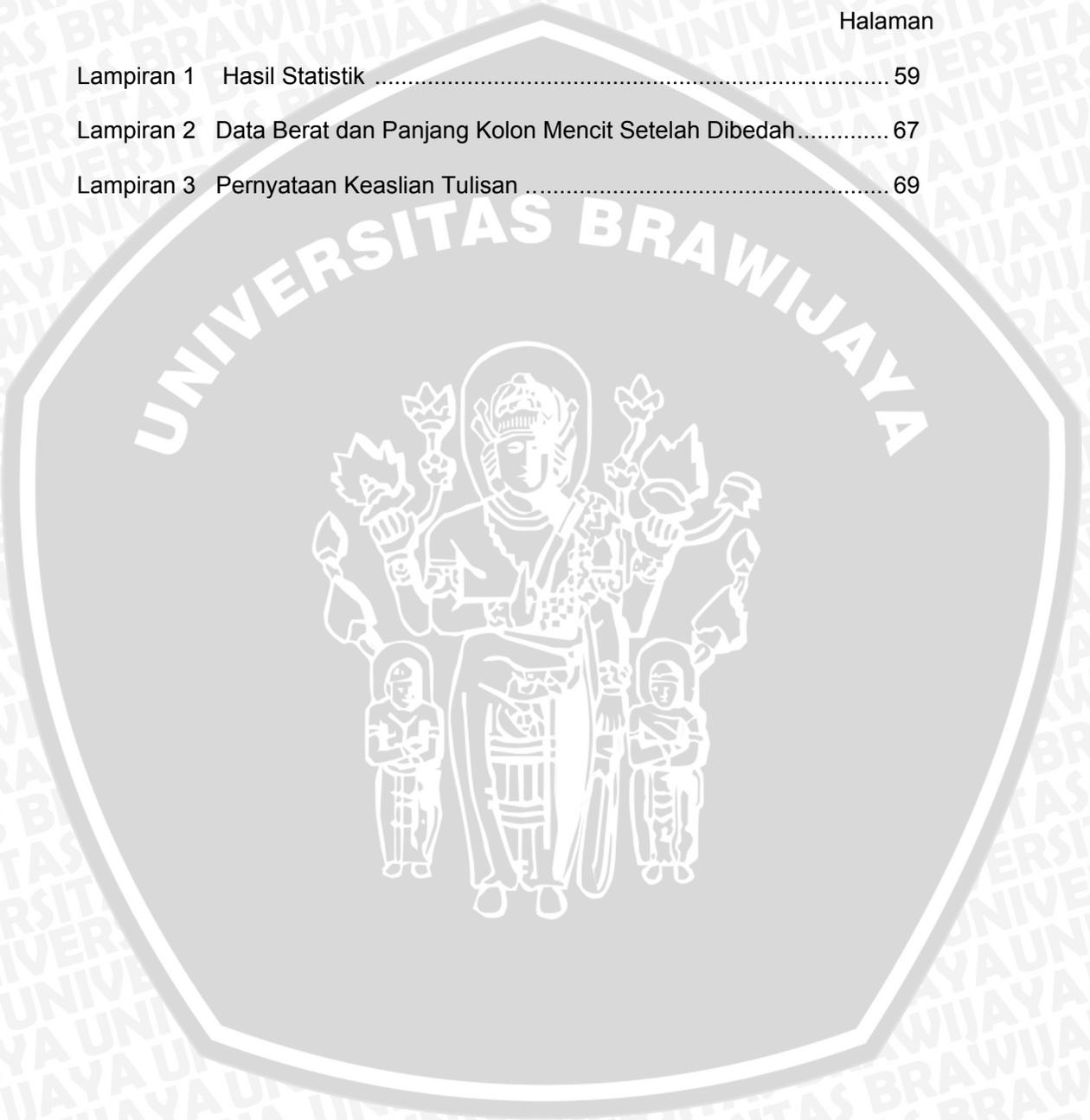
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Klasifikasi derajat keparahan dari kolitis ulseratif (Witts <i>et al</i> ,1995)..	12
Tabel 2.2 Stadium Kolitis Ulseratif .....	15
Tabel 5.1 Jumlah Sel PMN pada 20x Lapang Pandang.....	41
Tabel 5.2 Uji Normalitas One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test ..	44
Tabel 5.3 Tabel Hasil Uji Homogenitas .....	44
Tabel 5.4 Tabel Hasil Uji ANOVA.....	45
Tabel 5.5 Tabel Hasil Uji Post Hoc Tukey.....	46
Tabel 5.6 Tabel Korelasi Pearson .....	47



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Statistik .....	59
Lampiran 2 Data Berat dan Panjang Kolon Mencit Setelah Dibedah.....	67
Lampiran 3 Pernyataan Keaslian Tulisan .....	69



**DAFTAR SINGKATAN**

IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
PMN	: <i>Polymorphonuclear</i>
p-ANCA	: <i>perinuclear Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Antibodies</i>
HLA	: <i>Human Leukocyte Antigen</i>
DSS	: <i>Dextran Sulfate Sodium Salt</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factors</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
Th	: <i>T helper</i>
NF-Kb	: <i>Nuclear Factor-KappaB</i>
IgG	: <i>Immunoglobulin G</i>
TNBS	: <i>Trinitrobenzene Sulfonate</i>
DNBS	: <i>Dinitrobenzenesulfonic acid</i>
HE	: <i>Hematoksilin-Eosin</i>
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
PBST-PMSF	: <i>Fofat Bufer Salin Tween-Fenil Metil Sulfonil Fluorida</i>
PBS	: <i>Fofat Bufer Salin</i>
SD	: <i>Std. Deviation</i>



## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kolitis ulseratif adalah penyakit autoimun, yaitu penyakit yang disebabkan oleh defek pada sistem kekebalan tubuh. Kolitis ulseratif sering melibatkan rektum dan terbatas pada usus besar. Kolitis ulseratif termasuk dalam kategori *Inflammatory Bowel Diseases (IBD)* atau penyakit inflamasi usus (Daniel, *et al.*, 2002).

Kolitis ulseratif pada awalnya banyak ditemukan di negara-negara Amerika dan Eropa Utara dengan prevalensi yang tinggi. Insidensi Kolitis ulseratif di Amerika Serikat dapat mencapai 4-12 per 100.000 populasi dan terus meningkat dalam beberapa dekade ini. Penyakit ini lebih banyak menyerang wanita daripada pria dan pada orang kulit putih daripada kulit berwarna. Penderita kolitis ulseratif biasanya berusia antara usia 20 sampai 40 tahun, namun tidak tertutup kemungkinan menyerang penderita yang lebih muda ataupun lebih tua (Kumar *et al.*, 2005). Saat ini kolitis ulseratif merupakan penyakit yang meningkat prevalensi dan insidennya di negara berkembang di Asia maupun Eropa Selatan yang merupakan daerah tropik dan negara industri (Loftus, 2004). Hal ini menunjukkan bahwa penyakit kolitis ulseratif merupakan suatu proses yang dinamik. Insiden lebih tinggi dapat dilihat di negara-negara industri. Masyarakat kota insidennya lebih tinggi jika dibandingkan dengan masyarakat di daerah pedesaan. Peningkatan kasus yang signifikan mendukung teori bahwa faktor lingkungan memiliki peran

penting dalam munculnya penyakit kolitis ulseratif. Hal ini ditambah dengan adanya gaya hidup yang kurang sehat, seperti mengonsumsi makanan yang serba instan, kebiasaan makan yang kurang sehat, merokok, polusi udara, dan industri kimia yang dapat mengakibatkan munculnya penyakit ini.

Di Asia Timur, termasuk Indonesia, prevalensi kolitis ulseratif cenderung meningkat karena adanya perubahan keadaan sosial ekonomi yang berdampak adanya perubahan gaya hidup dari masyarakat. Perubahan gaya hidup ini adalah masyarakat cenderung lebih banyak mengonsumsi makanan siap saji yang mengandung tinggi lemak dan rendah serat sehingga pola makan menjadi tidak seimbang. Hal ini disebabkan karena kehidupan modern menuntut kecepatan dan semua hal yang serba praktis sehingga menjadikan orang tidak peduli dengan pola makan sehat dan seimbang terutama untuk memenuhi kebutuhan serat.

Patogenesis kolitis ulseratif sangat kompleks dan multifaktorial, tetapi diyakini disebabkan hasil interaksi antara lingkungan, genetik, mikroba dan faktor imunitas. Imunoregulasi dalam usus merupakan hal yang sangat kompleks dalam patofisiologi kolitis ulseratif. Pada kolitis ulseratif peradangan dimulai dari aktivasi sel limfosit T yang diikuti oleh aktivasi mediator-mediator inflamasi lainnya (Friedman dan Blumberg, 2005). Reaksi radang yang ditandai dengan akumulasi dari sel PMN yang terdiri dari sel neutrofil, eosinofil, dan basofil (Avery, 2006). Saat ini pengobatan kolitis ulseratif sangat tergantung pada kortikosteroid dan agen immunosupresif berspektrum luas. Kedua obat tersebut bila digunakan dalam waktu yang panjang akan memiliki efek samping yang berbahaya (Hunter,2003). Peradangan yang terjadi pada kolitis ulseratif umumnya diatasi dengan obat-obatan anti-kolitis

seperti *sulfasalazine*, *olsalazine*, dan *mesalazine*, yang banyak digunakan dalam terapi kolitis ulseratif pada manusia dan memiliki beberapa fungsi *immunomodulator* (Axelsson *et al.*, 1996). Namun demikian, obat-obat tersebut dapat menambah beratnya penyakit, menyebabkan abnormalitas sperma, alergi, gangguan fungsi hati, pankreatitis, dan efek samping lainnya (Friedman dan Blumberg,2005).

Salah satu upaya lain untuk mengobati penyakit ini adalah dengan imunoterapi. Salah satu upaya untuk mengobati kolitis ulseratif adalah dengan *worm therapy*. Terapi dengan menggunakan cacing banyak dipakai di berbagai belahan dunia seperti Cina, Rusia dan Jepang (Elliot *et al.*,2003). Penjelasan mengenai terapi ini yaitu infeksi cacing pada kolon dapat menimbulkan respon terhadap Th2 yang memproduksi sitokin IL-4,IL-10,dan IL-13 yang kemudian akan mencegah munculnya Th1, yang berhubungan dengan munculnya kolitis ulseratif (Hunter,2003).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengkaji secara mendalam tentang efek ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* sebagai terapi terhadap kolitis ulseratif pada mencit *Balb/c* sebagai model.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh pemberian terapi berbagai dosis ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* terhadap jumlah sel PMN kolon mencit *Balb/c* yang dibuat model kolitis ulseratif.

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* terhadap perubahan jumlah sel PMN mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan peningkatan jumlah sel *Polymorphonuclear* (PMN) pada kolon mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif dibandingkan dengan kolon mencit kontrol negatif.
2. Membuktikan adanya penurunan jumlah sel PMN pada kolon mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif setelah diterapi dengan ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus*.
3. Membuktikan adanya hubungan kenaikan dosis ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dengan penurunan jumlah sel PMN pada mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif.
4. Mengetahui dosis optimal ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* yang dapat menurunkan jumlah sel PMN pada kolon mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

1. Digunakan sebagai pilot studi untuk mengembangkan penelitian dalam bidang helmintologi.
2. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lanjutan mengenai efektifitas penggunaan ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* sebagai terapi penyakit kolitis ulseratif.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah tentang peran dan manfaat nematoda *Heligmosomoides polygyrus* sebagai terapi penyakit kolitis ulseratif.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

1. Ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* dapat digunakan oleh masyarakat umum sebagai terapi pada penderita kolitis ulseratif.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kolitis Ulseratif

##### 2.1.1 Pengertian Kolitis Ulseratif

Radang usus besar (kolitis) adalah suatu peradangan kronis dari usus besar (kolon). Kolon adalah bagian dari sistem pencernaan di mana sisa-sisa materi disimpan. Pada pasien-pasien dengan radang usus besar terdapat gejala-gejala dari sakit perut, diare, dan perdarahan rektum. Rektum adalah ujung (akhir) dari kolon yang berbatasan pada dubur (anus).

Kolitis adalah suatu peradangan akut atau kronik pada kolon, yang berdasarkan penyebab dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

- a. Kolitis infeksi, misalnya kolitis tuberkulosa, kolitis amebik, kolitis pseudomembran, serta kolitis karena virus atau bakteri atau parasit.
- b. Kolitis non infeksi, misalnya kolitis ulseratif, *Crohn's disease*, kolitis iskemik, kolitis mikroskopik.

Kolitis ulseratif adalah penyakit autoimun, yaitu penyakit yang disebabkan oleh defek pada sistem kekebalan tubuh. Kolitis ulseratif sering melibatkan rektum dan terbatas pada usus besar. Kolitis ulseratif yang termasuk dalam kategori *Inflammatory Bowel Disease (IBD)* atau penyakit inflammasi usus (Daniel, et al., 2002).

### 2.1.2 Epidemiologi dan Etiologi

Kolitis ulseratif pada awalnya banyak ditemukan di negara-negara Amerika dan Eropa Utara dengan prevalensi yang tinggi. Insidens Kolitis ulseratif di Amerika Serikat dapat mencapai 4-12 per 100.000 populasi dan terus meningkat dalam beberapa dekade ini. Penyakit ini lebih banyak menyerang wanita daripada pria dan pada orang kulit putih daripada kulit berwarna. Penderita kolitis ulseratif biasanya berusia antara usia 20 sampai 40 tahun, namun tidak tertutup kemungkinan menyerang penderita yang lebih muda ataupun lebih tua (Kumar *et al.*, 2005). Di Amerika Serikat, prevalensi penyakit ini diperkirakan bisa mencapai kejadian sebanyak 200 per 100.000 penduduk (Jugde *et al.*, 2003). Sementara itu, puncak kejadian penyakit ini adalah antara usia 15 dan 35 tahun, penyakit ini juga telah dilaporkan terjadi pada setiap dekade kehidupan (Glickman, 2000).

Di Asia Timur, termasuk Indonesia, prevalensi kolitis ulseratif cenderung meningkat karena adanya perubahan keadaan sosial ekonomi yang berdampak adanya perubahan gaya hidup dari masyarakat. Perubahan gaya hidup ini adalah masyarakat cenderung lebih banyak mengonsumsi makanan siap saji yang mengandung tinggi lemak dan rendah serat. Hal ini disebabkan adanya tuntutan dari kehidupan modern yang menjadikan kesibukan sebagai rutinitas, sehingga pola makan menjadi tidak seimbang. Kehidupan modern menuntut kecepatan dan semua hal yang serba praktis, menjadikan orang tidak peduli dengan pola makan sehat untuk memenuhi kebutuhan serat (Aprilia, 2008).

Sementara penyebab kolitis ulseratif belum dapat dipastikan. Gambaran tertentu penyakit ini telah menunjukkan beberapa kemungkinan penting. Hal ini meliputi faktor familial atau genetik, infeksi, imunologik dan psikologik. Dari faktor familial atau genetik menyatakan bahwa penyakit ini lebih sering dijumpai pada orang kulit putih daripada orang kulit hitam dan orang ras Cina.

Faktor imunologik juga menjadi dugaan etiologi dari kolitis ulseratif. Teori bahwa mekanisme imun dapat terlibat didasarkan pada konsep bahwa manifestasi ekstraintestinal yang dapat menyertai kelainan ini (misalnya arthritis, perikolangitis) dapat mewakili fenomena autoimun dan bahwa zat terapeutik tersebut, seperti glukokortikoid atau azatioprin, dapat menunjukkan efek mereka melalui mekanisme immunosupresif. Pada 60-70% pasien dengan kolitis ulseratif, ditemukan adanya p-ANCA (*perinuclear Anti-Neutrophilic Cytoplasmic Antibodies*). Walaupun p-ANCA tidak terlibat dalam pathogenesis penyakit kolitis ulseratif, namun dikaitkan dengan alel HLA-DR2, di mana pasien dengan p-ANCA negative lebih cenderung menjadi HLA-DR4 positif (Jugde *et al.*, 2003). Dari faktor psikologik, gambaran psikologis pasien penyakit radang usus juga telah ditekankan.

Sedangkan dari faktor lingkungan, menyatakan bahwa ada hubungan terbalik antara operasi apendektomi dan penyakit kolitis ulseratif berdasarkan analisis bahwa insiden penyakit kolitis ulseratif menurun secara signifikan pada pasien yang menjalani operasi apendektomi pada dekade ke-3. Beberapa penelitian sekarang menunjukkan penurunan risiko penyakit kolitis ulseratif di antara perokok dibandingkan dengan yang bukan perokok. Analisis meta menunjukkan risiko penyakit kolitis ulseratif pada perokok sebanyak 40% dibandingkan dengan bukan perokok (Jugde *et al.*, 2003).

### 2.1.3 Patogenesis

Ada bukti aktivasi imun pada IBD, dengan infiltrasi lamina propria oleh limfosit, makrofag, dan sel-sel lain, meskipun antigen pencetusnya belum jelas. Virus dan bakteri telah diperkirakan sebagai pencetus, namun sedikit yang mendukung adanya infeksi spesifik yang menjadi penyebab IBD. Hipotesis yang kedua adalah bahwa *dietary* antigen atau agen mikroba non patogen yang normal mengaktivasi respon imun yang abnormal. Hasilnya suatu mekanisme penghambat yang gagal. Pada tikus, defek genetik pada fungsi sel T atau produksi sitokin menghasilkan respon imun yang tidak terkontrol pada flora normal kolon. Hipotesis ketiga adalah bahwa pencetus IBD adalah suatu autoantigen yang dihasilkan oleh epitel intestinal. Pada teori ini, pasien menghasilkan respon imun inisial melawan antigen *lumenal*, yang tetap dan diperkuat karena kesamaan antara antigen *lumenal* dan protein *host*.

Hipotesis autoimun ini meliputi pengrusakan sel-sel epitelial oleh sitotoksitas seluler *antibody-dependent* atau sitotoksitas *cell-mediated* secara langsung. Imun *respon cell-mediated* juga terlibat dalam patogenesis IBD. Ada peningkatan sekresi antibodi oleh sel mononuklear intestinal, terutama IgG dan IgM yang melengkapi komplemen. Kolitis ulseratif dihubungkan dengan meningkatnya produksi IgG1 (oleh limfosit Th2) dan IgG3, sub tipe yang respon terhadap protein dan antigen *T-cell-dependent*. Ada juga peningkatan produksi sitokin proinflamasi (IL-1, IL-6, IL-8 dan *tumor necrosis factor- $\alpha$*  [TNF- $\alpha$ ], terutama pada aktivasi makrofag di lamina propria. Sitokin yang lain (IL-10, TGF- $\beta$ ) menurunkan imun respon. Defek produksi sitokin ini menghasilkan inflamasi yang kronis. Sitokin juga terlibat dalam

penyembuhan luka dan proses fibrosis. Faktor imun yang lain dalam pembentukan penyakit IBD termasuk produksi superoksida dan spesies oksigen reaktif yang lain oleh aktivasi netrofil, *mediator soluble* yang meningkatkan permeabilitas dan merangsang vasodilatasi, komponen kemotaksis netrofil lekotrien dan nitrit oksida yang menyebabkan vasodilatasi dan edema (Yamada,2005).

#### 2.1.4 Tanda dan Gejala

Gejala utama kolitis ulseratif adalah diare berdarah dan nyeri abdomen, seringkali dengan demam dan penurunan berat badan pada kasus berat. Pada penyakit yang ringan, bisa terdapat satu atau dua feses yang tidak sempurna, yang mengandung sedikit darah dan tanpa manifestasi sistemik (Glickman,2000).

Derajat klinik kolitis ulseratif dapat dibagi atas berat, sedang dan ringan, berdasarkan frekuensi diare, ada atau tidaknya demam, derajat beratnya anemia yang terjadi dan laju endap darah (klasifikasi *Truelove*). Perjalanan penyakit kolitis ulseratif dapat dimulai dengan serangan pertama yang berat ataupun dimulai ringan yang bertambah berat secara gradual setiap minggu. Berat ringannya serangan pertama sesuai dengan panjangnya kolon yang terlibat. Lesi mukosa bersifat difus dan terutama hanya melibatkan lapisan mukosa. Secara endoskopik penilaian aktifitas penyakit kolitis ulseratif relatif mudah dengan menilai gradasi berat ringannya lesi mukosa dan luasnya bagian usus yang terlibat (Djojoningrat,2006).

Gambaran khas pada kolitis ulseratif adalah adanya abses kripti, distorsi kripti, infiltrasi sel mononukleus dan polimorfonuklear di lamina propria. (IPD, 2009)

Pada saat diagnosis, kolitis ulseratif hanya mengenai rektum atau kolon rektosigmoid. Kelainan kolon bersifat kontinu sehingga tidak ditemukan *skip lesions*. Pada penyakit aktif, dimana terjadi destruksi inflamatorik mukosa yang terus-menerus, terlihat gambaran hiperemia, edema dan mukosa granular yang rapuh dan mudah berdarah pada gambaran makroskopiknya. Sedangkan pada penyakit yang parah, dapat terbentuk ulkus ulseratif berdasar luas di kolon distal atau di seluruh kolon.

Terdapat pulau-pulau regenerasi mukosa yang terpisah-pisah dan menyembul ke atas sehingga membentuk pseudopolip. Tepi ulkus yang berdekatan sering menyatu untuk membentuk terowongan.

Jika muskularis propria terkena maka dapat terjadi perforasi dan pembentukan abses perikolon. Namun hal ini jarang terjadi. Terpajannya muskularis propria dan plexus saraf ke feses juga dapat menyebabkan berhentinya fungsi neuromuskulus secara total sehingga kolon mengalami pembengkakan progresif dan menjadi gangren (megakolon toksik).

Gambaran patologik pada kolitis ulseratif adalah peradangan mukosa, ulserasi dan kerusakan kronis mukosa. Awalnya, hampir selalu ditemukan infiltrat peradangan difus yang terutama terdiri dari sel mononukleus, di lamina propria bahkan pada saat gejala klinis pertama kali muncul. Infiltrasi neutrofil di permukaan epitel menyebabkan terbentuknya kumpulan neutrofil di lumen kriptus (abses kriptus).

Adanya destruksi mukosa lebih lanjut menyebabkan terbentuknya ulkus yang meluas ke dalam sub mukosa dan kadang-kadang dapat mengenai muskularis propria. Dengan adanya remisi penyakit aktif, kawah ulkus terisi oleh jaringan granulasi, diikuti oleh regenerasi epitel mukosa.

Fibrosis sub mukosa serta kacaunya arsitektur mukosa merupakan gejala sisa pada penyakit yang sudah sembuh.

**Tabel 2.1. Klasifikasi derajat keparahan dari kolitis ulseratif (Witts *et al* ,1995)**

Atifitas	Ringan	Sedang	Berat
Jumlah berak darah per hari (n)	< 4	4-6	>6
Suhu (°C)	Afebrile	Intermediate	>38,7
Heart rate (beats per minute)	Normal	Intermediate	>90
Haemoglobin (g/dl)	>11	10,5-11	<10,5
Erythrocyte sedimentation rate (mm/h)	<20	20-30	>30

### 2.1.5 Gambaran Fisik Diagnostik

Temuan fisik pada kolitis ulseratif biasanya nonspesifik, bisa terdapat distensi abdomen atau nyeri sepanjang perjalanan kolon. Pada kasus ringan, pemeriksaan fisik umum akan normal. Demam, takikardia dan hipotensi postural biasanya berhubungan dengan penyakit yang lebih berat (Glickman,2000). Manifestasi ekstrakolon bisa dijumpai. Hal ini termasuk penyakit okular (iritis, uveitis, episkleritis), keterlibatan kulit (eritema nodosum, pioderma gangrenosum), dan artralgi/arthritis (periferal dan aksial artropati). Kolangitis sklerosing primer jarang dijumpai (Choon-Jin,2006).

### 2.1.6 Gambaran Histopatologi

Yang termasuk kriteria histopatologik adalah perubahan struktur mukosa, perubahan epitel dan perubahan lamina propria. Perubahan struktur mukosa meliputi perubahan permukaan, densitas kripta, gambaran abnormal struktur kripta (distorsi, bercabang, memendek). Perubahan epitel seperti

berkurangnya musin dan metaplasia sel Paneth serta permukaan villiform juga diperhatikan. Perubahan lamina propria meliputi penambahan dan perubahan distribusi sel radang. Granuloma dan sel-sel berinti banyak biasanya ditemukan. Gambaran mikroskopik ini berhubungan dengan stadium penyakit, apakah stadium akut, *resolving* atau kronik/menyembuh. Pada kolon normal, permukaan datar, kripta tegak, sejajar, bentuknya sama, jarak antar kripta sama, dan dasar dekat muskularis mukosa. Sel-sel inflamasi, dominan terletak di bagian atas lamina propria (Damajanti,2005).

Tsang dan Rotterdam (1999), membagi gambaran histologik penyakit kolitis ulseratif menjadi kriteria mayor dan minor. Sekurang-kurangnya dua kriteria mayor harus dipenuhi untuk diagnosis kolitis ulseratif.

Kriteria mayor kolitis ulseratif:

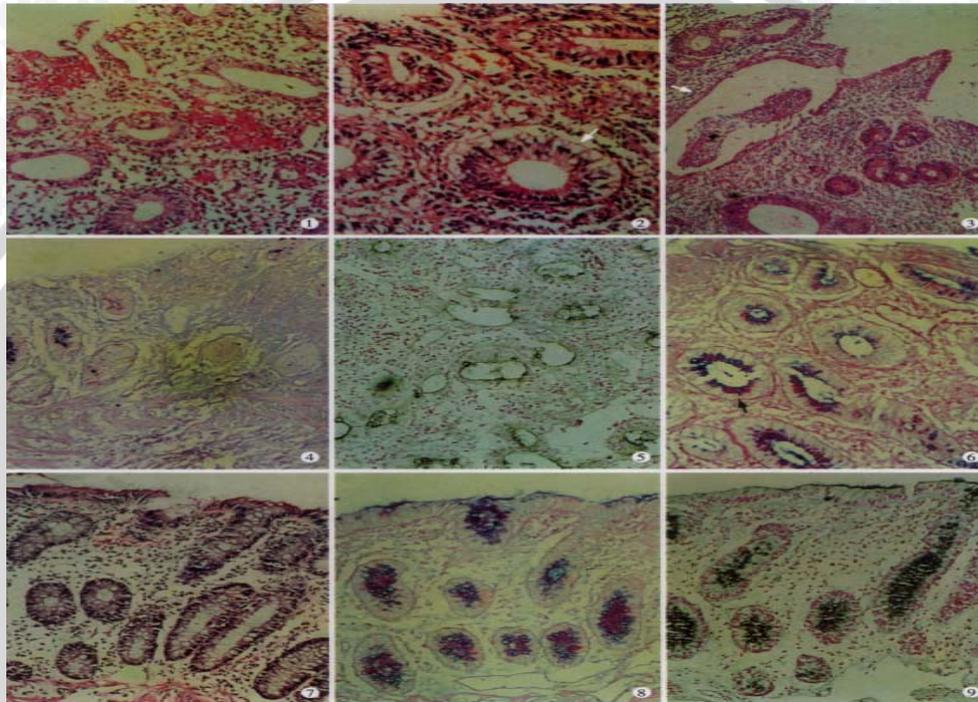
- Infiltrasi sel radang yang difus pada mukosa
- Basal plasmositosis
- Netrofil pada seluruh ketebalan mukosa
- Abses kripta
- Kriptitis
- Distorsi kripta
- Permukaan viliformis

Kriteria minor kolitis ulseratif:

- Jumlah sel goblet berkurang
- Metaplasia sel Paneth

Tetapi pada kolitis ulseratif stadium dini, gambarannya tidak dapat

dibedakan dari kolitis infeksiif. Dan kolitis ulseratif mempunyai tiga stadium (lihat tabel), yang gambaran mikroskopiknya berbeda-beda. Pada penderita dapat ditemukan gambaran ketiga stadium dalam satu sediaan.



**Gambar 2.1 Gambaran Kolitis ulseratif (Glickman,2000)**

Keterangan :

Gambar 1. Mukosa kolon hiperemia, edema, dan infiltrasi sel inflamasi. Sel goblet dalam tubuh kelenjar menurun, yang terdiri dari sel-sel kolumnar.

Gambar 2. Panah menunjukkan vakuola infranuclear.

Gambar 3. Panah menunjukkan abses crypt. H.E.  $\times 100$ .

Gambar 4. Musin asam dalam tubuh kelenjar menghilang. AB-PAS pewarnaan  $\times 100$ .

Gambar 5. Sulfat musin dalam tubuh kelenjar menghilang. HID-AB pewarnaan  $\times 100$ .

Gambar 6. Musin dalam kelenjar menurun.

Gambar 7. Mukosa kolon hiperemi ringan, infiltrasi sel inflamasi mukosa kurang. H.E.  $\times 100$

Gambar 8 Pengurangan musin asam tidak jelas. AB-PAS pewarnaan  $\times 100$

Gambar 9 Tidak ada pengurangan sulfat musin. HID-AB pewarnaan  $\times 100$

Tabel 2.2 Stadium Kolitis ulseratif

Stadium	Acute Stage	Resolving Stage	Chronic-Healed Stage
Vascular congestion	++	+	
Mucin depletion	+	-	
Cryptitis, crypt abscess	++	+	
Epithelial lost and ulcer	++	-	
PMN, eosinophil and mast cell	++	+	
Luminal pus	++	-	
Basal plasma cell	++	++	
Epithelial regeneration	-	++	
Expansion of mitotic active cell	-	++	
Architectural distortion :			
*Atrophy			++
*Branching			++
*Crypt Shortening			++
*Villous Surface			++
Metaplasia pyloric			++
Metaplasia Paneth cell			++
Lymphoid hyperplasia			++
Epithelial displacement			++
Increased mononucleus			++
Endocrine cell hyperplasia			++
Squamous metaplasia			++

## 2.2 Kolon

### 2.2.1 Pengertian

Kolon adalah bagian ujung dari saluran pencernaan manusia, yang terdiri dari usus besar, rektum, dan anus. Kolon dimulai pada sisi kanan bawah perut, di mana usus kecil mengosongkan isi pencernaan ke dalam bagian pertama dari usus besar (sekum). Kolon naik dari sekum ke atas sehingga sejajar dengan hati, kemudian menikung tajam ke kiri dan melewati lambung secara melintang.

### 2.2.2 Histoanatomi Kolon

Panjang usus besar (kolon dan rektum) sekitar 1.500cm, yang terdiri dari sekum, kolon asenden, kolon transversum, kolon desenden, kolon sigmoid dan rektum. Dinding usus besar mempunyai tiga lapis yaitu lapisan mukosa (bagian dalam), yang berfungsi untuk mencernakan makanan dan absorpsi makanan,

lapisan muskularis (bagian tengah) yang berfungsi untuk menolak makanan ke bagian bawah, dan lapisan serosa (bagian luar), bagian ini sangat licin sehingga dinding usus tidak berlekat satu sama lain di dalam rongga abdomen. Berbeda dengan mukosa usus halus, pada mukosa kolon tidak dijumpai vili dan kelenjar biasanya lurus-lurus dan teratur. Permukaan mukosa terdiri dari pelapis epitel tipe absortif (kolumnar) diselingi sel goblet. Pelapis epitel kripta terdiri dari sel goblet. Pada lamina propia seara sporadikterdapat nodul jaringan limfoid. Sel berfungsi mengabsorbsi air, lebih dominanpada kolon bagian proksimal (asenden dan tranversum). Sedangkan sel goblet lebih banyak dijumpai pada kolon desenden. Lamina propia lebih seluler (sel plasma, limfosit, dan eosinofil) pada bagian proksimal dibanding dengan distal dan rektum. Pada bagian distal kolon sel plasma hanya ada di bawah epitel permukaan. Sel Paneth bisa ditemukan pada sekum dan kolon asenden. Pada anus terdapat sfingter anal internal (otot polos) dan sfingter anal eksternal (otot rangka) yang mengitari anus (Aprilia,2008).

### 2.3 Immunosupresant

Immunosupresif adalah obat-obat yang membantu menekan sistem kekebalan tubuh. Banyak yang awalnya digunakan pada pasien yang menerima transplantasi organ untuk membantu mencegah tubuh mereka dari menolak organ transplantasi. Namun, obat ini sekarang juga digunakan untuk pengobatan penyakit autoimun tertentu, seperti kolitis ulseratif dan kanker kolon. Pada orang dengan kolitis ulseratif, sistem kekebalan tubuh secara salah menyerang jaringan tubuh sendiri.

Kolitis ulseratif sendiri juga diketahui meningkatkan risiko kanker, sehingga dengan menyembuhkan kolitis ulseratif dapat mencegah dari kerusakan lebih lanjut untuk tubuh, salah satunya dengan terapi immunosupresif yang dapat menurunkan resiko terkena kanker. (Jonh *et al*, 2012)

Imunoregulasi dalam usus merupakan hal yang sangat kompleks dalam patofisiologi kolitis ulseratif. Pada kolitis ulseratif peradangan dimulai akibat dari aktivasi sel limfosit T yang diikuti oleh aktivasi mediator-mediator inflamasi lainnya (Friedman dan Blumberg, 2005). Saat ini pengobatan kolitis ulseratif sangat tergantung pada kortikosteroid dan immunosupresif berspektrum luas. Kedua obat tersebut bila digunakan dalam waktu yang panjang akan memiliki efek samping yang berbahaya (Hunter,2003). Peradangan yang terjadi pada kolitis ulseratif umumnya diatasi dengan obat-obatan anti-kolitis seperti *sulfasalazine*, *olsalazine*, dan *mesalazine*, yang banyak digunakan dalam terapi kolitis ulseratif pada manusia dan memiliki beberapa fungsi *immunomodulator* bagi tubuh (Axelsson *et al.*, 1996). Namun demikian, obat-obat tersebut dapat menambah beratnya penyakit, menyebabkan abnormalitas sperma, alergi, gangguan fungsi hati, pankreatitis, dan efek samping lainnya (Friedman dan Blumberg,2005).

#### 2.4 Worm Therapy

*Worm therapy* atau terapi yang menggunakan cacing merupakan salah satu terapi alternatif untuk pengobatan. *Worm therapy* banyak dipakai di berbagai belahan dunia seperti Cina, Rusia dan Jepang (Elliot *et al.* 2003). Hal tersebut telah diteliti pada hewan untuk menentukan peran dari infeksi cacing, seperti dalam penelitian Elliot *et al.*(2003) yang menunjukkan infeksi *Schistosoma*

*mansonii* sebagai respon perlindungan terhadap kolitis yang diinduksi dengan *trinitrobenzene sulfonate* (TNBS) pada mencit. Menurut Reardon *et al.*(2001) infeksi pada mencit menggunakan cacing *Hymenolepis diminuta* dapat memperbaiki kolitis yang telah diinduksi dengan DSS, sedangkan pada penelitian Weinstock *et al.*(2005) menunjukkan penggunaan cacing pada babi *Trichuris suis* sebagai terapi penyakit *Crohn Disease* dan pada penelitian Khan *et al.*(2002) tampak mencit yang telah terinfeksi nematoda *Trichinella spiralis* terlindung dari kolitis yang diinduksi dengan DNBS. Selain itu penggunaan *Helimogsomoides polygyrus* atau *Trichuris muris* dapat memelihara atau mengembalikan kondisi kolitis kronis secara spontan pada mencit (Elliot *et al.*, 2004).

Cacing sudah banyak digunakan sebagai terapi kepada manusia, contohnya adalah terapi menggunakan ovum *Trichuris suis*. Ovum *Trichuris suis* diketahui efektif untuk penyakit chron dan kolitis ulseratif. Pasien yang mengkonsumsi 2500 ovum cacing secara oral sekali setiap dua minggu dapat mengalami peningkatan penyembuhan sebanyak 50% dibandingkan pasien yang mengkonsumsi plasebo yang hanya mengalami peningkatan sebanyak 15% (Summers *et al.*, 2005).

Namun, mulai banyak penelitian tentang *Heligmosomoides polygyrus* sebagai terapi kolitis ulseratif. Hal tersebut dikarenakan *Heligmosomoides polygyrus* mempunyai kemampuan untuk mempertahankan respon Th2 dan secara efektif dapat mencegah meningkatnya regulasi ekspresi gen terutama sitokin Th1 yaitu IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ , selain itu dapat mencegah kerusakan mukosa dengan cara menurunkan sitokin proinflamasi dan infiltrasi neutrofil (Sutton, *et al.* 2008).

## 2.5 *Heligmosomoides polygyrus*

### 2.5.1 Taksonomi

Kingdom	: Metazoa
Phylum	: Nematoda
Class	: Chromadorea
Order	: Rhabditida
Family	: Heligmosomatidae
Genus	: <i>Heligmosomoides</i>
Spesies	: <i>Heligmosomoides polygyrus</i> (Pone <i>et al.</i> ,2011)

### 2.5.2 Pengertian

*Heligmosomoides polygyrus* merupakan parasit nematoda dengan mencit sebagai *natural host*, perkembangannya menyerupai cacing tambang. *Heligmosomoides polygyrus* seperti halnya *Nippostrongylus brasiliensis* adalah parasit yang memiliki peranan penting dalam penelitian biomedik, karena kemampuan aktivatornya secara sistemik maupun mukosal Th2 pada respon imun. Kedua parasit ini secara luas telah lama digunakan untuk mempelajari imunitas perlindungan host dan regulasi in vivo pada respon imun Th2. Organisme ini bekerja dengan cepat dalam menghasilkan infeksi gastrointestinal parasit nematoda dimana larvanya akan bermigrasi dari jaringan menuju paru, yang kemudian dicerna dan masuk ke dalam intestinum dalam waktu tiga hingga empat hari. Ketika cacing ini mencapai intestinum, maka ia akan secara cepat berkembang biak menjadi cacing dewasa, yang akan berkembang biak dan memproduksi telur fertil yang nantinya keluar melalui feses.

Pemeliharaan siklus hidup baik pada *Nippostrongylus brasiliensis*

maupun *Heligmosomoides polygyrus* pada tubuh mencit memerlukan penanganan khusus, namun banyaknya jumlah larva infeksi stadium tiga (L3) dapat dihasilkan dengan mudah dan dalam waktu yang singkat. Host yang selama ini digunakan adalah mencit. Hewan ini dapat dengan mudah memproduksi parasit pada jumlah besar ( $>1 \cdot 10^6$ ), sehingga tersedia jumlah infeksi (larva) yang cukup tepat setelah dikembangkan selama beberapa minggu. Infeksi pada mencit dapat menggunakan administrasi oral.

### 2.5.3 Siklus Hidup *Heligmosomoides polygyrus*

*Heligmosomoides polygyrus* adalah nematoda trichostrongiloides yang ditemukan pada tikus kecil atau mencit. Siklus hidupnya *direct* dan melibatkan stadium parasit juga stadium *free-living*-nya.

#### 1. Stadium Telur

- a) Setelah diletakkan, telur yang mengandung larva telah berkembang sempurna dalam waktu 28 jam. Dapat dilihat bahwa larva ini dapat bergerak dengan sangat cepat dengan atau tanpa cangkang telurnya.
- b) Telur menetas menjadi larva stadium satu (L1) setelah berkembang pada waktu 36 jam.
- c) Telur menetas menjadi larva stadium satu (L1) setelah berkembang pada waktu 36 jam.
- d) Kemudian berkembang lagi menjadi larva stadium tiga (L3) yaitu stadium larva yang infeksi setelah 20 jam.
- e) Pada waktu 24 jam setelah infeksi, apabila tidak terdapat larva pada

lumen usus *host* , hal ini menandakan bahwa larva telah keluar dari lapisan telurnya dan berpenetrasi ke dalam mukosa usus mencit.

- f) Larva stadium empat (L4) berkembang sekitar 90 jam post-infeksi. Kemudian berkembang lagi pada waktu 144 jam post-infeksi.

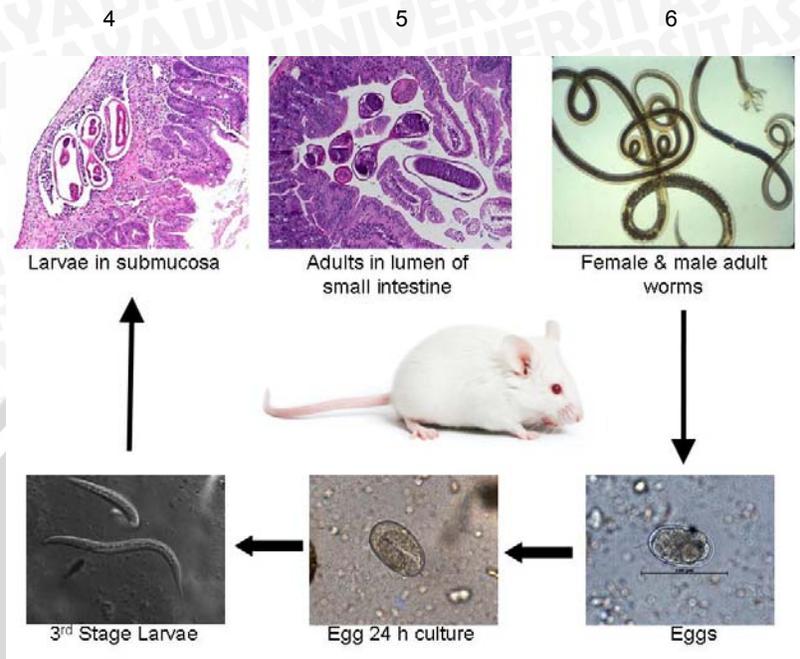
## 2. Stadium Dewasa

Setelah lebih kurang 191 jam, kebanyakan cacing-cacing ini telah bermigrasi dari mukosa ke lumen usus. Cacing-cacing ini kemudian berkopulasi dan telur pertama dapat dideteksi di feses *host* sekitar 240 jam post-infeksi. Siklus hidup *Heligmosomoides polygyrus* dari stadium telur kembali ke stadium telur memerlukan waktu sekitar 325 jam atau sekitar 13,5 hari (2 minggu).



Gambar 2.2 Cacing *Heligmosomoides polygyrus* Stadium dewasa

Bentuk dari cacing dewasa jantan dan betina. Jenis kelamin atau *copulatory bursa* pada cacing jantan dewasa dapat dilihat di ujung posterior (pada gambar ada di sebelah kanan). Ujung posterior pada cacing betina dewasa menyerupai bentyk stadium L4. Telur dapat dilihat sepertiga bagian posterior dari tubuh cacing betina dewasa. (Bryant,1973).



**Gambar 2.3** Siklus hidup *Heligmosomoides polygyrus*

Telur yang mengandung larva (1), menetas jadi larva stadium satu dalam 36 jam (2), berkembang jadi larva stadium 3 dalam 36 jam (3), larva penetrasi ke dalam mukosa usus (4). Dalam 190 jam cacing bermigrasi ke lumen usus (5), bentuk cacing dewasa (6)

**2.6 Mekanisme *Heligmosomoides polygyrus* dalam Menekan Kolitis**

Insiden penyakit kolitis ulseratif meningkat pada populasi dimana tidak ada paparan dengan cacing. Alasan untuk fokus pada hilangnya paparan terhadap cacing adalah bahwa paparan terhadap cacing dapat melindungi model hewan coba dari penyakit ini. (Elliott et al., 2000). Pemberian paparan menggunakan cacing dapat memberikan manfaat bagi tubuh manusia karena meningkatnya Th2 sehingga dapat menekan alergi dan respon autoimun (Wilson dan Maizels, 2004). Pada saat cacing masuk ke dalam tubuh, Th2 akan menjadi respon imun yang berperan dominan. Ini dikarenakan adanya sitokin-sitokin pada Th2 yang berperan penting dalam membasmi cacing. Pada awalnya cacing dianggap sebagai benda asing atau antigen yang harus segera dihancurkan, sehingga Th2 akan meningkat dan dengan demikian meningkatkan sitokin-sitokin yang diproduksi seperti IL-4 yang menstimulasi produksi antibodi IgE, IL-5 yang mengaktivasi eosinofil, IL-10 dan IL-13 (Baratawidjaja,2009).

Menurut Baratawidjaja (2009), IL-4, IL-10 dan IL-13 diketahui dapat mensupresi aktivitas makrofag dan juga aktivitas Th1 sehingga Th1 tidak dapat mensekresikan sitokin-sitokannya yang bersifat pro-inflamasi dengan demikian inflamasi yang terjadi pada kolitis ulseratif dapat menurun. Penelitian mengungkapkan bahwa penurunan IL-10 pada mencit yang diinduksi kolitis akan menambah keparahan mencit tersebut. TNF- $\alpha$  adalah sitokin utama yang diproduksi oleh fagosit mononuklear yang berfungsi menstimulasi sekresi netrofil dan monosit pada tempat infeksi dan mengaktifasi sel-sel ini untuk membunuh mikroba. TNF menstimulasi sel endotel pembuluh darah untuk mengekspresikan molekul-molekul adhesi dan menginduksi makrofag dan sel endotelial untuk mensekresi kemokin.

Banyak penyakit autoimun disebabkan karena gangguan pada sel T. Dan terapi yang diberikan bertujuan untuk menurunkan inflamasi, seperti menggunakan steroid dan anatagonist terhadap sitokin seperti TNF- $\alpha$ . Antagonis TNF- $\alpha$  telah terbukti bermanfaat bagi pasien artritis rematoid dan IBD. Paparan cacing dapat menginduksi sitokin Th2 seperti IL-4 dan IL-13 yang menginduksi sekresi mukus usus, meningkatkan kontraktilitas otot polos usus, dan menstimulasi sekresi cairan dalam lumen usus (Madden *et al.*, 2004). Th2 juga bersifat protektif pada manusia dalam pertahanan terhadap helminth. IL-10 juga merupakan salah satu sitokin dari Th2 yang berperan penting dalam membatasi inflamasi. IL-10 menghambat makrofag dan fungsi sel dendritik dan menekan produksi dari sitokin pro-inflamasi penting seperti TNF- $\alpha$ , IL-12 dan IL-1. (Akdis dan Blaser, 2001).

TGF- $\beta$  dapat memblok jalur NF- $\kappa$ B yang penting dalam inflamasi. Pasien IBD mengekspresikan faktor transkripsi smad-7 dalam jumlah yang besar yang dapat memblok sinyal dari reseptor TGF- $\beta$ . Dengan adanya paparan cacing *Heligmosomoides polygyrus*, ekspresi smad-7 dapat diblok sehingga membuka jalan sinyal receptor TGF- $\beta$  dan dengan demikian dapat menghentikan inflamasi. (Monteleone *et al.*, 2004).

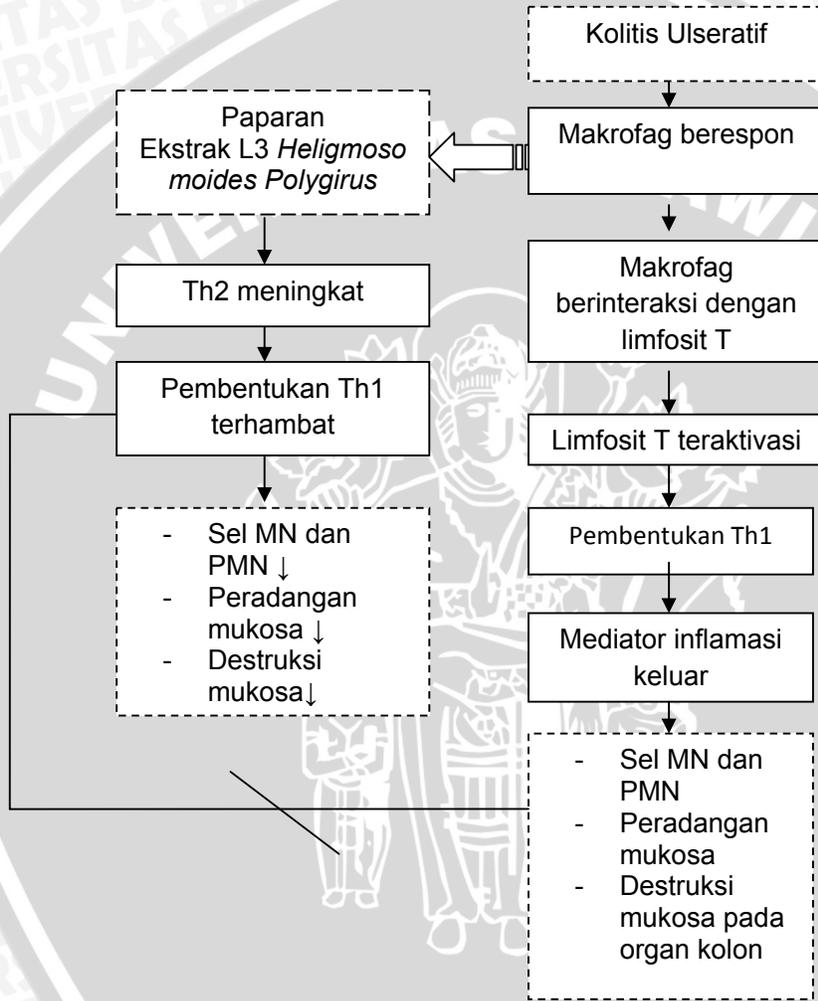
FoxP3 mengkode ekspresi faktor transkripsi sel T CD4+CD25+ dan berperan penting dalam perkembangan sel-sel ini. FoxP3 juga merupakan regulator sel T yang dapat mensekresi IL-10 dan TGF- $\beta$  (McGuirk dan Mills, 2002). Jelaslah bahwa regulasi sitokin merupakan mekanisme penting yang terjadi sebagai akibat adanya paparan cacing *Heligmosomoides polygyrus*,

dimana mukosa lamina propria dapat memproduksi sitokin Th2 (IL-4, IL-13) dan faktor regulasi (IL-10, TGF- $\beta$ , PGE2) dalam jumlah yang besar.

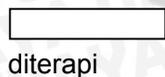


BAB III  
KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



Keterangan :

tidak diteliti

— : menghambat



diterapi

diteliti

→ : menyebabkan

Inflamasi yang disebabkan oleh penyakit kolitis akan membuat makrofag sebagai respon inflamasi awal keluar. Makrofag ini kemudian akan berinteraksi dengan limfosit T sebagai respon inflamasi lebih lanjut untuk teraktivasi.

Paparan terhadap ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides Polygyrus* menyebabkan sistem imun terutama Th2 meningkat. Th2 kemudian memproduksi sitokin –sitokin seperti IL-4, IL-10 dan IL-13. Sitokin-sitokin ini kemudian akan menekan pembentukan Th1.

Karena pembentukan Th1 ditekan, maka produksi sitokin-sitokin yang berperan dalam Th1 juga ikut menurun. Penurunan Th1 ini akan secara langsung menyebabkan penurunan IFN $\gamma$  dan secara tidak langsung menyebabkan penurunan IL-12.

Penurunan IL-12 akan menyebabkan dua hal. Yang pertama, terjadi penurunan produksi sel NK yang menyebabkan produksi IFN $\gamma$  menurun dan yang kedua, terjadi penurunan diferensiasi sel T CD4+ naive untuk menjadi Th1, sehingga IFN $\gamma$  yang merupakan sitokin yang berperan dalam Th1 juga ikut menurun.

Jika Th1 ini terhambat produksinya akan menguragi proses inflamasi. Dan infiltrasi sel-sel radang pada kolon akan berkurang atau menghilang sesuai dosis yang diberikan.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Jumlah sel radang PMN pada kolon mencit yang dibuat model kolitis ulseratif mengalami penurunan setelah pemberian ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus*.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Sifat Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium menggunakan hewan coba mencit *Balb/c* yang dibuat model penyakit kolitis ulseratif dengan induksi *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) 5%.

#### 4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *true experimental-post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui dan membandingkan beberapa kelompok perlakuan.

#### 4.3 Sampel Penelitian

Sebagai sampel penelitian digunakan 30 ekor mencit *Balb/c* jantan umur 8-10 minggu, berat antara 20-25 gram yang diperoleh dari Pusat Veteriner Farma (Pusvetma) Surabaya yang diadaptasikan selama 1 minggu di Laboratorium Parasitologi FKUB sebelum perlakuan.

Sampel dalam penelitian ini adalah mencit dewasa, dengan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi sebagai berikut :

Kriteria Inklusi :

- a. Mencit *Balb/c* dewasa dan sehat.
- b. Jantan, umur 8-10 minggu.
- c. Berat antara 20-25 gram.
- d. Tidak cacat secara anatomis.

Kriteria Eksklusi :

- Sakit
- Terdapat cacat
- Mati

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan, maka pengulangannya adalah:

$$P(n-1) \geq 16$$

$$4(n-1) \geq 16$$

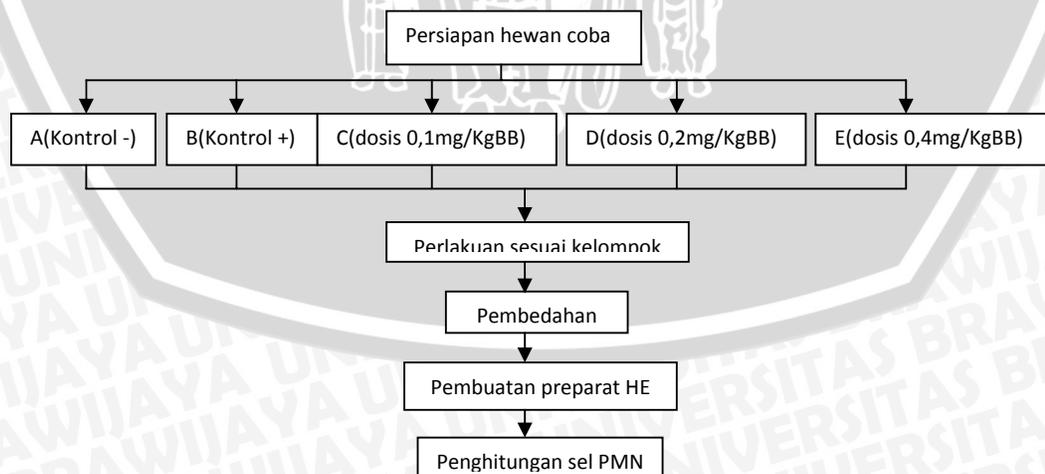
$$4n \geq 12 \sim n \geq 3$$

Maka jumlah pengulangan yang dibutuhkan untuk tiap kelompok perlakuan adalah 4.

#### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan September sampai Desember 2012.

#### 4.5 Alur Penelitian



Persiapan hewan coba dengan jumlah mencit *Balb/c* sebanyak 30 ekor. Setelah itu mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok A, B, C, D, dan E. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Kemudian dilakukan perlakuan sesuai dengan kelompok coba, yaitu kelompok A (kontrol negatif), B (kontrol positif), C (kelompok dengan terapi 0,1 mg/KgBB), D (kelompok dengan terapi 0,2 mg/KgBB), dan E (Kelompok dengan terapi 0,4 mg/KgBB). Mencit mulai dikorbankan untuk dilakukan pembedahan setelah perlakuan selesai. Dalam pembedahan, mencit diambil kolonnya untuk dibuat preparat dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) dan hasil dari preparat kolon dihitung jumlah sel PMN dari kolon mencit dengan menggunakan mikroskop cahaya.

#### 4.6 Bahan Penelitian

Bahan ekstrak nematoda usus *Heligmosomoides polygyrus* menurut Egger (2001) yang digunakan adalah L3 nematoda usus *Heligmosomoides polygyrus*.

#### 4.7 Variabel

##### 4.7.1 Klasifikasi variabel

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Variabel bebas (*independent variable*) : pemberian ekstrak nematoda *Heligmosomoides polygyrus*.
- Variabel tergantung (*dependent variable*) : adalah jumlah sel PMN pada kolon mencit.

##### 4.7.2 Definisi Operasional Variabel

- Ekstrak nematoda usus *Heligmosomoides polygyrus* adalah ekstrak yang dibuat dari L3 nematoda usus *Heligmosomoides polygyrus* (Egger, 2001) yang diperoleh dari Jikei Universitas Tokyo. Penggunaan

*Heligmosomoides polygyrus* dikarenakan *Heligmosomoides polygyrus* merupakan cacing usus alami pada mencit. Selain itu, L3 *Heligmosomoides polygyrus* dapat berkembang di luar tubuh mencit.

- Sel PMN merupakan sel radang yang terdiri dari sel neutrofil, eosinofil dan basofil (Avery *et al*, 2006).

#### Model

mencit adalah mencit yang dibuat model kolitis ulseratif dengan siklus pemberian DSS 5% yaitu dengan melarutkan 5 gr DSS ke dalam 100 mL aquades. DDS 5% diberikan selama 7 hari melalui air minumannya. (Smith *et al.*, 2007). Pemberian DSS 5% dapat menyebabkan inflamasi mukosa dan efeknya sistemik jika diberikan ke dalam tubuh mencit (Axelson,1996).

## 4.8 Prosedur Penelitian

### 4.8.1 Ekstraksi L3 Nematoda *Heligmosomoides polygyrus*

Ekstrak L3 nematoda usus *Heligmosomoides polygyrus* diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Brawijaya, dengan penjelasan garis besarnya adalah larva ditambah dengan larutan PBST-PMSF (fostat bufer salin tween-fenil metil sulfonil florida) 4mM sebanyak 5x volume sampel, kemudian divorteks selama 10 menit lalu dipisahkan dinding selnya dengan sonikator selama 10 menit dan dipisahkan dari endapan dan supernatannya menggunakan sentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 15 menit. Supernatan ditambahkan etanol absolut dingin dengan perbandingan 1:1, disimpan selama semalam pada lemari pendingin. Sampel kemudian dipisahkan endapan dari supernatannya dengan sentrifus pada

kecepatan 6000 rpm selama 15 menit, selanjutnya etanol dibuang dan endapan dikeringkan dan ditambah buffer tris-Cl 20 mM pH 6,8 dengan perbandingan 1:1. Hasil isolasi disimpan pada suhu -20°C (Johnston,2010).

#### 4.8.2 Pembuatan Model Kolitis

Mencit diberi DSS 5% (MW=40.000, ICN Biomedicals Inc., CA, USA) melalui air minumnya secara *ad libitum* untuk menginduksi kolitis. Periode percobaan pada masing-masing tikus yang diberikan DSS 5% adalah tiga hingga empat belas hari. Kondisi klinis mencit diobservasi setiap hari. Berat badan pada mencit yang diberi 5% DSS diukur setiap hari (Wang,2004). Untuk mendeteksi terjadinya colitis dilakukan dengan pemeriksaan tiga indicator, yaitu penurunan berat badan mencit, dan penilaian dari fekal darah yang diambil dari feses dengan tes *Fecal Occult Blood Test* (FOBT) (Endharti *et al.*,2011). Pada akhir percobaan mencit dikorbankan dengan dislokasi servikal secara cepat sehingga tidak menimbulkan rasa sakit berkepanjangan.

#### 4.8.3 Preparasi Hewan Coba

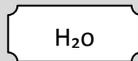
Preparasi hewan coba dilakukan selama 1 minggu untuk aklimatisasi di laboratorium. Disiapkan 30 mencit untuk membiakkan *Heligmosomoides polygyrus* L3 sampai menjadi dewasa di intestine mencit selama 14 hari. Untuk penelitian terapi *Heligmosomoides polygyrus*, mencit dibagi dalam 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 mencit.

### 4.9 Pengelompokan Subyek Penelitian

Minggu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	H <sub>2</sub> O												
B		H <sub>2</sub> O											
C		H <sub>2</sub> O		H <sub>2</sub> O	D1		H <sub>2</sub> O	D1		H <sub>2</sub> O	D1		
D		H <sub>2</sub> O		H <sub>2</sub> O	D2		H <sub>2</sub> O	D2		H <sub>2</sub> O	D2		
E		H <sub>2</sub> O		H <sub>2</sub> O	D3		H <sub>2</sub> O	D3		H <sub>2</sub> O	D3		

Keterangan :



: Aquades



: Dosis 1 *H. polygyrus* 0,1 mg/KgBB



: DSS 5%



: Dosis 1 *H. polygyrus* 0,2 mg/KgBB



: Pembedahan



: Dosis 1 *H. polygyrus* 0,4 mg/KgBB

Kelompok A : Kelompok sehat yang hanya diberi aquades sampai hewan dibedah.

Kelompok B : Kelompok yang diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) pada minggu ke-1 melalui air minum selama 1 minggu. Pada minggu ke 2 diberi aquades selama 2 minggu . Pada minggu ke 4 diberi 5% DSS selama 1 minggu lagi. Pada minggu ke 5 di beri aquades selama 2 minggu lagi Pada minggu ke -7 dilanjutkan diberi 5% DSS selama 1 minggu lagi. Minggu ke-8 dilanjutkan diberi aquades selama 2 minggu lagi. Pada minggu ke-10 diberi diberi 5% DSS selama

1 minggu lagi. Minggu ke-11 sampai 12 tetap diberi aquades sampai hewan dibedah.

Kelompok C : Kelompok yang diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) pada minggu ke-1 melalui air minum selama 1 minggu. Pada minggu ke 2 diberi aquades selama 2 minggu, lalu pada minggu ke-4 diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu, minggu ke-5 dilanjutkan aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,1 mg/KgBB(3x seminggu). Pada minggu ke 7 diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu lagi Pada minggu ke 8 diberi aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,1 mg/KgBB(3x seminggu) lagi. Pada minggu ke-10 dilanjutkan dengan 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu lagi. Minggu ke-11 sampai 12 tetap diberi aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,1 mg/KgBB(3x seminggu) sampai hewan dibedah.

Kelompok D : Kelompok yang diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) pada minggu ke-1 melalui air minum selama 1 minggu. Pada minggu ke 2 diberi aquades selama 2 minggu, lalu pada minggu ke-4 diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu, minggu ke-5 dilanjutkan aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,2 mg/KgBB(3x seminggu). Pada minggu ke 7 diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu lagi Pada minggu ke 8 diberi aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,2 mg/KgBB(3x seminggu) lagi. Pada minggu ke-10 dilanjutkan dengan 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu lagi. Minggu ke-11 sampai 12 tetap diberi aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,2 mg/KgBB(3x seminggu) sampai hewan dibedah.

Kelompok E : Kelompok yang diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) pada minggu ke-1 melalui air minum selama 1 minggu. Pada minggu ke 2 diberi aquades selama 2 minggu, lalu pada minggu ke-4 diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu, minggu ke-5 dilanjutkan aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,4 mg/KgBB(3x seminggu). Pada minggu ke 7 diberi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu lagi Pada minggu ke 8 diberi aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,4 mg/KgBB(3x seminggu) lagi. Pada minggu ke-10 dilanjutkan dengan 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) melalui air minum selama 1 minggu lagi. Minggu ke-11 sampai 12 tetap diberi aquades selama 2 minggu+ekstrak *H.polygyrus* 0,4 mg/KgBB(3x seminggu) sampai hewan dibedah

#### 4.10 Isolasi Jaringan Kolon Mencit

##### 4.10.1 Alat

Gunting kecil, pinset, mikro pipet, *blue tape*, *yellow tape*, penggaris, timbangan analitik, *culture plate*, spidol, tabung *glass*, sarung tangan, masker

##### 4.10.2 Bahan

Mencit yang sudah diinduksi kolitis, Eter, *Tri Reagent*, *Phosphate Buffer Saline* (PBS), Formalin 10%

##### 4.10.3 Cara Kerja

- Pada minggu ke-12, mencit yang sudah diinduksi kolitis dibunuh menggunakan eter.

- b. Mencit dibaringkan pada *stereoform* yang dilapisi alumunium dan disemprot dengan alkohol.
- c. Mencit dibedah menggunakan gunting dimulai dengan menggunting bagian abdomennya.
- d. Bagian kolon (ascenden, transversal dan descenden) diambil.
- e. Membebaskan kolon dari feses, mengukur panjang dan menimbang berat masing-masing kolon.
- f. Memotong kolon descenden sepanjang 1cm sebagai sampel dan meletakkan pada masing-masing *culture plate* yang sudah dilabeli.
- g. Organ kolon ditetesi PBS menggunakan mikro pipet untuk membersihkan organ tersebut dari darah.
- h. Kolon digunting halus
- i. Simpan kolon di formalin 10 %

#### 4.11 Pembuatan Preparat Kolon dengan pewarnaan HE

Pembuatan preparat histologi kolon dapat dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

- a) Fiksasi
  - a. Sediaan kolon direndam dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 0,1 mg/KgBB, kemudian dipotong dengan ketebalan  $\pm$  3 mm dan potongannya dimasukkan ke dalam kaset jaringan.
- b) Dehidrasi
  - a. Organ yang berada dalam kaset jaringan dimasukkan ke dalam gelas-gelas mesin *tissue processor* untuk dilakukan dehidrasi. Dehidrasi ini dilakukan bertahap dengan menggunakan alkohol yang konsentrasinya berbeda, dimulai dari konsentrasi 70%, 80%,

90%, 95%, alkohol absolut I dan alkohol absolut II masing-masing 2 jam. Setelah itu dilakukan proses penjernihan (*clearing*) memasukkan sediaan ke dalam xilol I dan II masing-masing 2 jam.

c) Perendaman dan Pencentakkan (*Embedding*)

a. Paraffin dimasukkan ke dalam cetakan sampai setengah, kemudian potongan jaringan dimasukkan, selanjutnya cetakan ditambah dengan parafin hingga penuh dan dilabel. Proses pencetakan dilakukan dengan menggunakan *tissue embedding console*. Sediaan lalu dibekukan dan didinginkan sebelum dilakukan pemotongan dengan menggunakan mikrotom.

d) Pemotongan (*Sectioning*)

a. Jaringan dipotong dengan menggunakan *rotary mycotome* dengan ketebalan 4-5  $\mu\text{m}$  dan hasil potongan selanjutnya ditempelkan pada gelas objek, kemudian dikeringkan pada suhu ruang lalu disimpan dalam inkubator sampai dilakukan pewarnaan.

e) Pewarnaan *Hematoksilin-Eosin*

a. Pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (HE) merupakan pewarnaan umum untuk melihat morfologi jaringan secara umum. Pada pewarnaan ini inti yang bersifat asam diwarnai dengan Hematoksilin (asidofilik) sedangkan sitoplasma diwarnai dengan Eosin (basofilik). Penggunaan pewarnaan ini dapat memvisualisasikan secara kontras bagian inti dan sitoplasma, sehingga gambaran mikroskopis jaringan dapat diamati dengan jelas.

- b. Pewarnaan HE diawali dengan proses deparafinasi dengan menggunakan xilol I, II dan III masing-masing selama 3 menit. Kemudian dilanjutkan dengan proses rehidrasi dengan menggunakan alkohol absolut I, II dan III masing-masing 3 menit, alkohol 95%, 90%, 80% dan 70% secara berurutan masing-masing selama 3 menit. Sediaan dicuci dengan air kran selama 10 menit dan dilanjutkan dengan air aquades selama 5 menit. Sediaan diwarnai dengan pewarna *Hematoksilin* selama 1 menit, kemudian dicuci dengan air kran selama 10 menit dan air aquades selama 5 menit.
- c. Setelah itu sediaan diwarnai dengan pewarna *Eosin* selama 5 menit dan dicuci kembali dengan air kran selama 10 menit dan air aquades selama 5 menit. Setelah sediaan diwarnai, dilakukan dehidrasi dengan alkohol 70%, 80%, 90% dan 95% masing-masing selama beberapa detik, dan dilanjutkan dengan alkohol 100% I, II dan III masing-masing 2 menit. Setelah itu dilakukan proses *Clearing* dengan xilol I, II dan III selama 3 menit dan ditutup dengan gelas penutup (Aziza *et al.*,2010).

#### 4.12 Pengolahan dan Analisis Data

Dilakukan uji normalitas data dan homogenitas varian, dilanjutkan dengan uji Anova dan *Post Hoc test* serta uji korelasi Pearson.

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

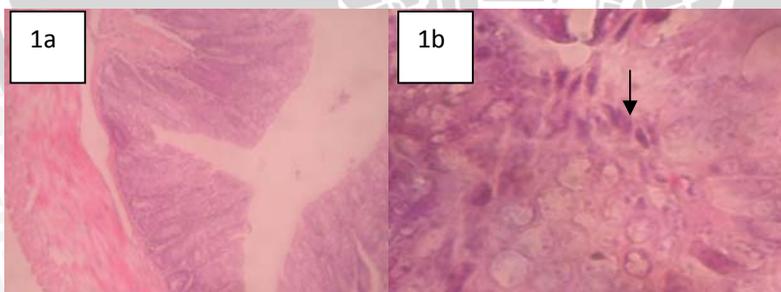
Penelitian ini menggunakan studi *true experimental* yang terdiri dari kelompok normal (kontrol negatif), kelompok yang dibuat model kolitis dengan diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) tanpa terapi (kontrol positif), kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,1 mg/KgBB, kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,2 mg/KgBB, dan kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,4 mg/KgBB. Masing-masing kelompok terdiri dari empat sampel mencit model kolitis ulseratif.

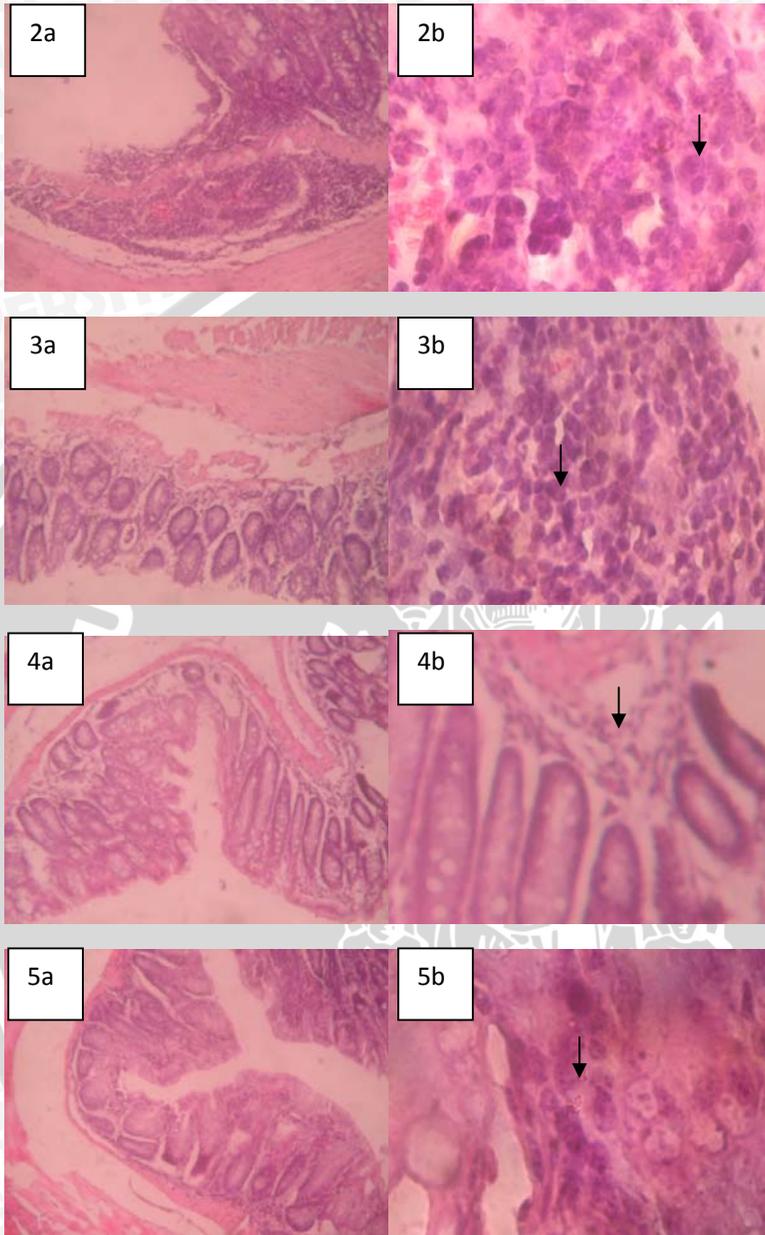
Pada minggu ke-12 setelah perlakuan, setiap mencit dari masing-masing kelompok dimatikan dan dibedah untuk mengamati kondisi kolon mencit model kolitis ulseratif secara makroskopis (lihat lampiran). Kemudian untuk selanjutnya dibuat preparat histopatologi dengan pewarnaan *hematoxilin-eosin*. Setiap preparat tersebut diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x dalam 20 lapangan pandang. Hasil pengamatan diperoleh data kuantitatif, data ini dianalisis dengan program *SPSS 16.0 for Windows* melalui uji *One Way Anova* dan uji *Post Hoc LSD* dengan tingkat kepercayaan 0,01.

## 5.1 Hasil Penelitian

### 5.1.1 Jumlah Sel Radang Sel PMN

Penghitungan jumlah sel radang pada preparat histopatologi kolon mencit dilakukan pada kelompok normal (kontrol negatif), kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) tanpa terapi (kontrol positif), kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,1 mg/KgBB, kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,2 mg/KgBB, dan kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan diterapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,4 mg/KgBB, pada akhir penelitian (minggu ke-12). Jaringan di ambil dari colon hewan coba yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) kemudian dipapar ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* sesuai perlakuan. Jaringan diproses dengan pewarnaan *Hematoksilin-eosin* lalu dihitung dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x dalam 20 lapangan pandang.





### 5.1 Gambaran Preparat Histologi Kolon

Keterangan :

1. a dan b : Kelompok perlakuan A kontrol negatif (mencit normal)
2. a dan b : Kelompok perlakuan B kontrol positif (mencit + 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS))

3. a dan b : Kelompok perlakuan C, mencit + 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) terapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,1 mg/kgBB
4. a. dan b : Kelompok perlakuan D ,mencit + 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) terapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,2 mg/kgBB
5. a dan b : Kelompok perlakuan E ,mencit + 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) terapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/kgBB

Rata-rata jumlah sel PMN dari preparat kolon mencit tiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel.

**Tabel 5.1 Jumlah sel PMN pada 20x Lapang Pandang (sel/ lapang pandang)**

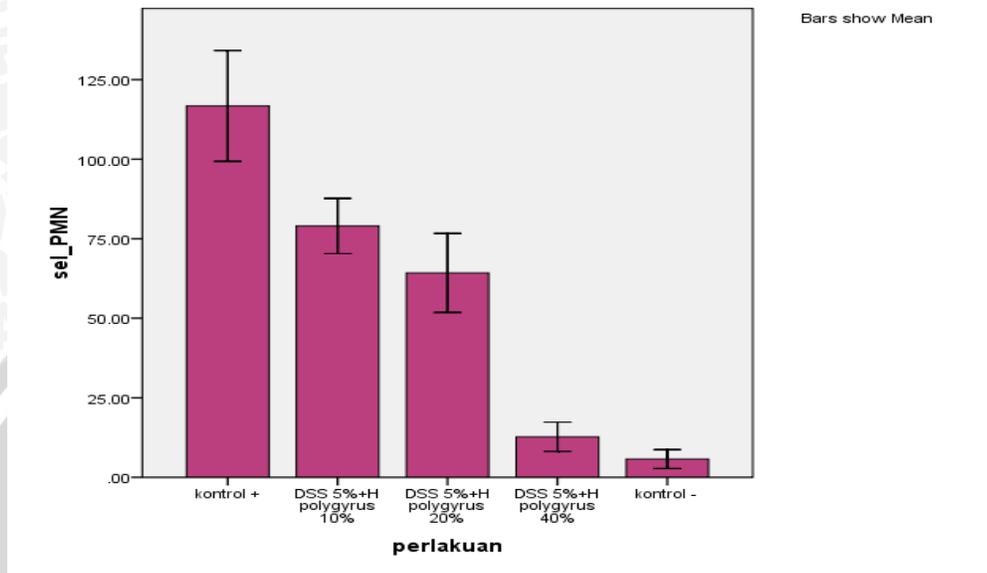
Kelompok	Pengulangan				Rata-Rata	±SD
	1	2	3	4		
A	11	5	3	4	5,75	3,594
B	140	112	125	90	116,75	21,188
C	93	80	75	68	79	10,551
D	47	81	70	58	64,25	15,108
E	19	15	6	11	12,75	5,560

Keterangan:

- A : Kontrol negatif (mencit normal)
- B : Kontrol positif (mencit+DSS5%)
- C : Mencit + DSS 5% + ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,1 mg/KgBB
- D : mencit + DSS 5% + ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,2 mg/KgBB
- E : mencit + DSS 5% + ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/KgBB

Berdasarkan tabel , nilai tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol positif sedangkan nilai terendah terdapat pada kelompok kontrol negatif. Rata-rata jumlah sel PMN pada kontrol negatif , yaitu kelompok yang diberi pakan normal tanpa perlakuan, menunjukkan rata-rata sel PMN sejumlah  $5,75 \pm 3,594$ . Nilai tertinggi rata-rata jumlah sel PMN terdapat pada kontrol positif, yaitu kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan pakan normal tanpa perlakuan, dengan jumlah rata-rata sel PMN sejumlah  $116,75 \pm 21,188$ . Pada kelompok C, yaitu kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan terapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,1 mg/KgBB, menunjukkan rata-rata jumlah sel PMN  $79,00 \pm 10,551$ . Pada kelompok D, yaitu kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan terapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,2 mg/KgBB, menunjukkan rata-rata jumlah sel PMN  $64,25 \pm 15,11$ . Pada kelompok E, yaitu kelompok yang diinduksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dan terapi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/KgBB, menunjukkan rata-rata jumlah sel PMN  $12,75 \pm 5,560$ .

### 5.1.2 Jumlah Sel PMN Menurun Seiring Pertambahan Konsentrasi Ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus*



Grafik 5.1 diagram batang jumlah sel PMN tiap-tiap perlakuan

Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa terjadi perbedaan jumlah sel PMN pada tiap kelompok perlakuan.

#### 5.2 Analisa Data

Data jumlah sel PMN terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametric *One way anova*. Jika dari hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan distribusi data yang normal ( $p > 0.05$ ) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ( $p > 0.05$ ), maka dapat dilakukan uji beda parametric *One way anova*.

Tabel 5.2 Uji Normalitas One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		sel_PMN
N		20
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	55.7000
	Std. Deviation	4.42649E1
Most Extreme Differences	Absolute	.196
	Positive	.196
	Negative	-.117
Kolmogorov-Smirnov Z		.879
Asymp. Sig. (2-tailed)		.423
a. Test distribution is Normal.		

Berdasarkan hasil uji normalitas kolmogorov smirnov, distribusi data jumlah sel PMN normal ( $p = 0.423$ ).Setelah uji normalitas, dilakukan uji homogenitas untuk memenuhi syarat untuk melakukan uji beda *parametric one way anova*.

Tabel 5.3 Tabel Hasil Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.787	4	15	.065

Berdasarkan hasil uji homogenitas, varian data dinyatakan homogen ( $p = 0.065$ ). Hasil pengujian asumsi di atas menunjukkan bahwa data memenuhi kedua jenis asumsi baik normalitas dan homogenitas sehingga pengujian dapat dilanjutkan dengan menggunakan uji *One Way Anova*.

Uji beda *parametric one way anova* dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah sel PMN setelah terpapar oleh ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah sel PMN yang bermakna jika nilai  $p < 0.05$ . Dari uji beda *One way anova*, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah sel PMN setelah terpapar oleh ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* pada berbagai konsentrasi ( $p = 0.000$ ) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* mengakibatkan perbedaan sel PMN.

5.4 Tabel hasil uji ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34731.200	4	8682.800	52.159	.000
Within Groups	2497.000	15	166.467		
Total	37228.200	19			

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi *Pos Hoc Tukey* guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah sel PMN antara dua macam dosis yang berbeda. Dikatakan terdapat perbedaan yang bermakna jika nilai  $p < 0.05$ . Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel berikut:

5.5 Tabel Hasil Uji Post Hoc Tukey

Nilai p	A (Kontrol -)	B (Kontrol +)	C(0,1 mg/KgBB)	D (0,2 mg/KgBB)	E (0,4 mg/KgBB)
A (Kontrol -)	-	0,000	0,000	0,000	0,936
B (Kontrol +)	0,000	-	0,007	0,000	0,000
C (0,1 mg/KgBB)	0,000	0,007	-	0,510	0,000
D (0,2 mg/KgBB)	0,000	0,000	0,510	-	0,000
E (0,4 mg/KgBB)	0,936	0,000	0,000	0,000	-

Terdapat perbedaan jumlah sel PMN yang bermakna antara kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan ( $p < 0.05$ ). pada konsentrasi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,1 mg/KgBB sudah mampu menurunkan jumlah sel PMN yang signifikan ( $p = 0.007$ ). Begitu juga dengan kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,2 mg/KgBB juga memberikan hasil perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$ ). Jumlah sel PMN pada konsentrasi 0,4 mg/KgBB tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif (mencit normal) ( $p = 0.936$ ), hal ini mengindikasikan bahwa jumlah sel PMN pada kelompok paparan ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/KgBB mampu memberikan gambaran sel PMN seperti mencit normal, sehingga konsentrasi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/KgBB merupakan konsentrasi optimal L3 *Heligmosomoides polygyrus* dalam menurunkan jumlah sel PMN.

Uji korelasi *parametric Pearson* menunjukkan nilai signifikansi (*P-value*) = 0.000 ( $p < 0.05$ ) dan *correlation coefficient* -0.945 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah sel PMN). *Pearson correlation coefficient* (*r*) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah sel PMN, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ( $r > 0.799$ ). (Pada tabel dibawah)

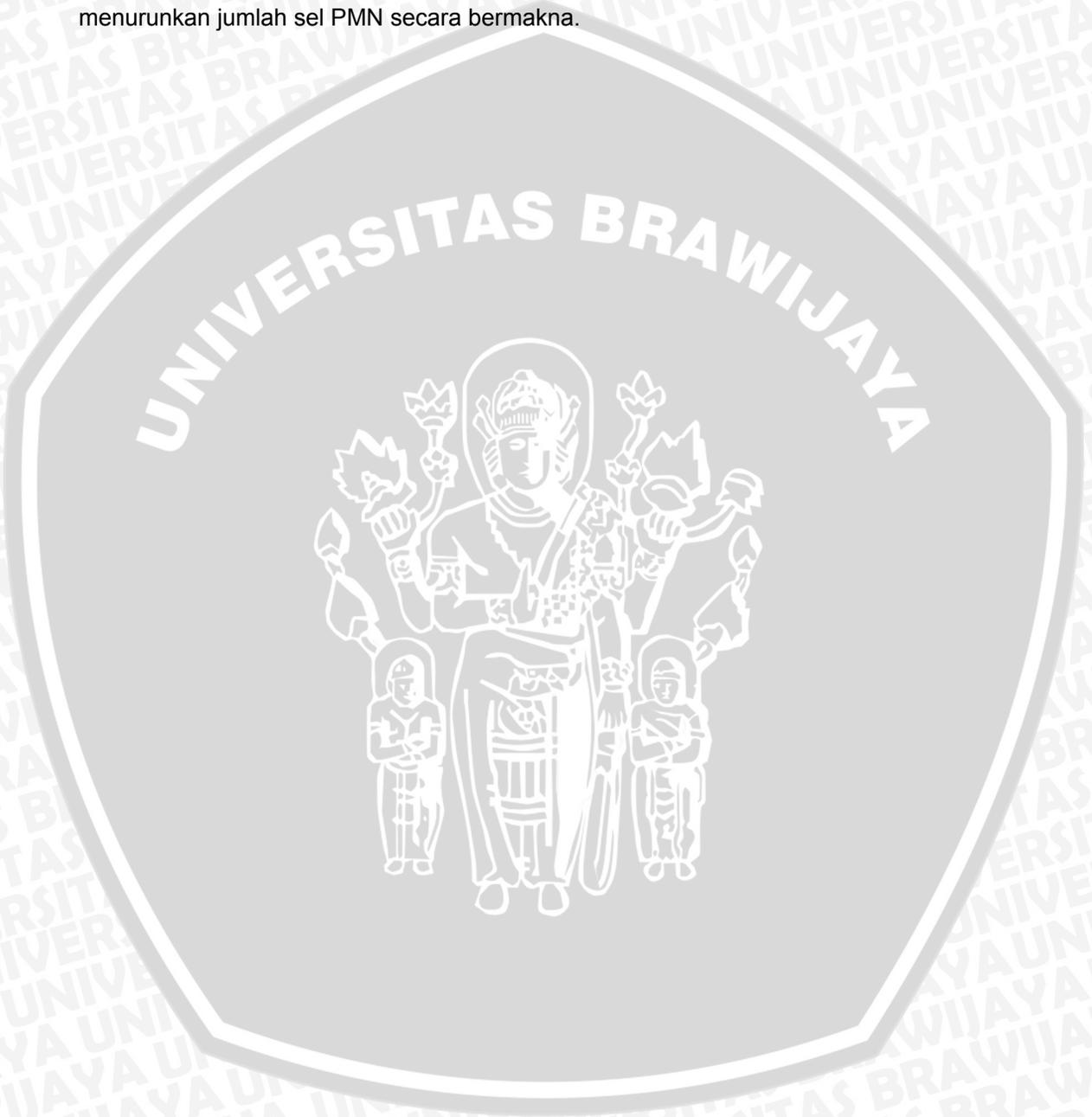
5.6 Tabel Korelasi *Pearson*

		perlakuan	sel_PMN
perlakuan	Pearson Correlation	1	-.945**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
sel_PMN	Pearson Correlation	-.945**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Note: : *r* = correlation coefficient, shows the strength of correlation. Weak correlation ( $r < 0.500$ ), moderate correlation ( $r = 0.500-0.599$ ), strong correlation ( $r = 0.600-0.799$ ), very strong correlation ( $r > 0.799$ )

Berdasarkan hasil-hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terapi ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* pada kelompok tersebut dapat menurunkan jumlah sel PMN secara bermakna.



## BAB VI

### PEMBAHASAN

Insiden penyakit kolitis ulseratif meningkat pada populasi dimana tidak ada paparan dengan cacing. Alasan untuk fokus pada hilangnya paparan terhadap cacing adalah bahwa paparan terhadap cacing dapat melindungi model hewan coba dari penyakit ini. (Elliott *et al.*, 2002). Pemberian paparan menggunakan cacing dapat memberikan manfaat bagi tubuh manusia karena meningkatnya Th2 sehingga dapat menekan alergi dan respon autoimun (Wilson dan Maizels, 2004). Pada saat cacing masuk ke dalam tubuh, Th2 akan menjadi respon imun yang berperan dominan. Ini dikarenakan adanya sitokin-sitokin pada Th2 yang berperan penting dalam membasmi cacing. Pada awalnya cacing dianggap sebagai benda asing atau antigen yang harus segera dihancurkan, sehingga Th2 akan meningkat dan dengan demikian meningkatkan sitokin-sitokin yang diproduksi seperti IL-4 yang menstimulasi produksi antibodi IgE, IL-5 yang mengaktivasi eosinofil, IL-10 dan IL-13 (Madden *et al.*, 2004).

*Heligmosomoides polygyrus* merupakan parasit nematoda dengan mencit sebagai *natural host*, perkembangannya menyerupai cacing tambang. *Heligmosomoides polygyrus* seperti halnya *Nippostrongylus brasiliensis* adalah parasit yang memiliki peranan penting dalam penelitian biomedik, karena kemampuan aktivatornya secara sistemik maupun mukosal Th2 pada respon imun. Kedua parasit ini secara luas telah lama digunakan untuk mempelajari imunitas perlindungan *host* dan regulasi *in vivo* pada respon imun Th2 (Elliott *et al.*, 2002).

Untuk menganalisis pengaruh ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* terhadap perubahan jumlah sel PMN kolon mencit model kolitis, dilakukan dengan cara penghitungan sel radang PMN. Preparat dibuat dari organ kolon mencit model kolitis dengan pewarnaan *Hematoxilin-eosin*. Kemudian dilakukan penghitungan sel radang PMN di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x dalam 20 lapangan pandang.

Hasil pengamatan secara mikroskopis pada kolon mencit kelompok kontrol negatif menunjukkan kondisi kolon yang normal. Sedangkan untuk kolon pada kelompok kontrol positif terdapat kondisi kolon yang tidak normal, yaitu adanya infiltrasi dari sel radang di lamina propia. Hasil perhitungan rata-rata jumlah sel PMN pada seluruh kelompok menunjukkan rerata kelompok negatif nilainya terendah dan rerata jumlah sel PMN yang tertinggi pada kelompok kontrol positif. Sedangkan kelompok yang diterapi dengan ekstrak *Heligmosomoides polygyrus* kelompok C, D, dan E terjadi penurunan sel PMN. Dengan hasil yang paling rendah pada kelompok E, dosis 0,4 mg/KgBB (grafik 5.1). Hal ini karena paparan terhadap ekstrak cacing *Heligmosomoides Polygyrus* menyebabkan sistem imun terutama Th2 meningkat (Elliot *et al*, 2004).

Pada hasil analisis data didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan seluruh kelompok lain. Sedangkan untuk kelompok kontrol negatif didapatkan perbedaan bermakna pada seluruh kelompok perlakuan lain, kecuali pada kelompok perlakuan E yaitu kelompok dengan perlakuan ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/KgBB.

Pada analisis jumlah sel PMN dari hasil uji *Post Hoc LSD* dengan *Tukey HSD Test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel PMN yang bermakna antara kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan semua

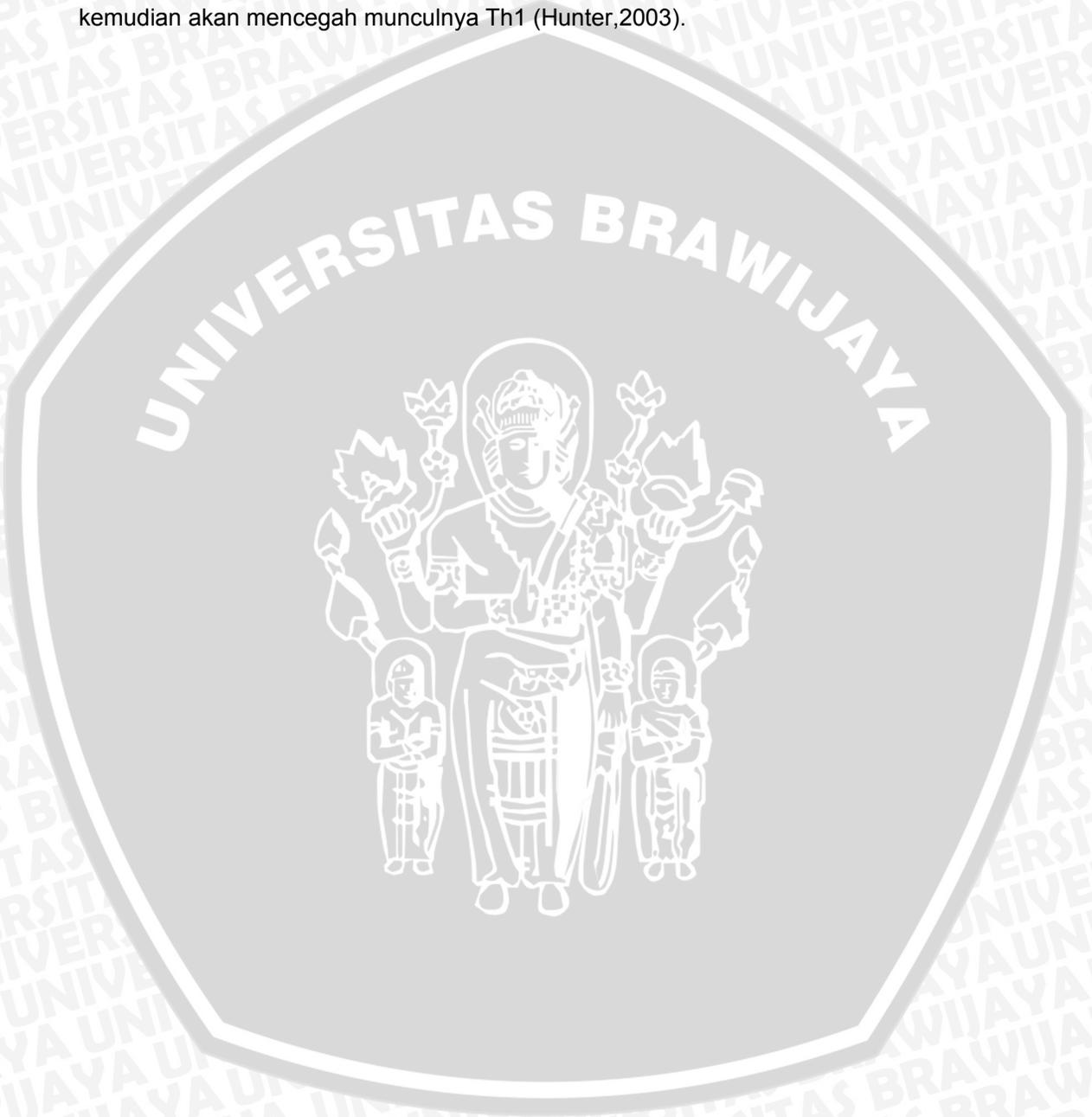
kelompok perlakuan ( $p < 0.05$ ). pada konsentrasi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,1 mg/KgBB sudah mampu menurunkan jumlah sel PMN yang signifikan ( $p = 0.007$ ). Begitu juga dengan kelompok perlakuan dengan konsentrasi ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,2 mg/KgBB juga memberikan hasil perbedaan yang bermakna ( $p=0,000$ ). Namun jumlah sel PMN pada konsentrasi 0,4 mg/KgBB tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif ( $p = 0.936$ ), hal ini menunjukkan bahwa jumlah sel PMN pada kelompok paparan ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* 0,4 mg/KgBB mampu memberikan gambaran sel PMN seperti mencit normal, sehingga konsentrasi ekstrak 0,4 mg/KgBB merupakan konsentrasi optimal ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* dalam menurunkan jumlah sel PMN.

Paparan ekstrak L3 *Heligmosomoides polygyrus* menyebabkan sistem imun terutama Th2 meningkat. Th2 kemudian memproduksi sitokin –sitokin seperti IL-4, IL-10 dan IL-13. Sitokin-sitokin ini kemudian akan menekan pembentukan Th1. Karena pembentukan Th1 ditekan, maka produksi sitokin-sitokin yang berperan dalam Th1 juga ikut menurun. Penurunan Th1 ini akan secara langsung menyebabkan penurunan IFN $\gamma$  dan secara tidak langsung menyebabkan penurunan IL-12.

Penurunan IL-12 akan menyebabkan dua hal. Yang pertama, terjadi penurunan produksi sel NK yang menyebabkan produksi IFN $\gamma$  menurun dan yang kedua, terjadi penurunan diferensiasi sel T CD4+ *naive* untuk menjadi Th1, sehingga IFN $\gamma$  yang merupakan sitokin yang berperan dalam Th1 juga ikut menurun.

Dengan ini ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* mampu mengurangi infiltrasi sel radang (PMN) yang terjadi pada kolitis pada kolon

mencit akibat autoimun. Hal ini disebabkan karena ekstrak cacing *Heligmosomoides polygyrus* dapat menimbulkan respon terhadap Th2 yang kemudian akan mencegah munculnya Th1 (Hunter,2003).



## BAB VII

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian mengenai pengaruh ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* terhadap perubahan jumlah sel PMN kolon mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif dengan induksi 5% *Dextran Sulfate Sodium* (DSS), maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* terhadap jumlah sel PMN mencit *Balb/c* model kolitis ulseratif.
2. Pada kolon mencit model kolitis terjadi peningkatan jumlah sel PMN dibandingkan dengan kolon mencit kontrol negatif.
3. Terjadi penurunan jumlah sel PMN pada kolon mencit model kolitis ulseratif yang diinduksi dengan DSS 5% setelah diterapi dengan ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* dosis 0,1 mg/KgBB, 0,2 mg/KgBB, dan 0,4 mg/KgBB.
4. Terdapat hubungan antara kenaikan dosis ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* dengan penurunan jumlah sel PMN pada mencit model kolitis ulseratif.
5. Dosis optimal pemberian ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus* dalam menurunkan jumlah sel PMN pada mencit model kolitis ulseratif adalah 0,4 mg/KgBB.

## 7.2 Saran

Beberapa hal yang perlu dilakukan sebagai tindak lanjut penelitian ini:

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui jumlah neutrofil dari sel PMN dengan marker GR1+ dianalisis menggunakan *flow cytometry*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui protein dalam ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus*.
3. Perlu dilakukan uji toksisitas terhadap pemberian ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus*.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping dari pemberian ekstrak L3 nematoda *Heligmosomoides polygyrus*.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aprilia,Dina. 2008. Kolitis Ulseratif Ditinjau Dari Aspek Etiologi, Klinik Dan Patogenesa. Medan:Universitas Sumatera Utara.
- Avery, J.K. dan Chiego,D.J. 2006. Essentials of Oral Histology And Embryology: A Clinical Aproach. 3 ed. By Mosby, Inc. Hal 177-183.
- Avunduk C. Inflammantory Bowel Disease .Manual of Gastroenterology: Diagnosis and Therapy. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. P. 239-56
- Axelson, L.G., Landstrom, E., Goldschmidt, T.J., Gronberg, A., Bylundfellenius, A.C. 1996. Dextran sulfate sodium (DSS)-induced experimental colitis in immunodeficient mice: effect in CD4+-cell depleted, arhythmic and NK-cell depleted SCID mice. *Inflamm Rev.* 45: 181-91
- Aziza, Rezi Zahra, 2010. Gambaran Histomorfologi Hati,Usus Halus, dan Limpa yang diberi Ekstrak Sambiloto.Laporan Penelitian IPB Dirdikti. Depdiknas
- Baratawidjaja KG,Rengganis I. 2009. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Blumberg RS, Saubermann LJ, Strober W. Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. [erratum appears in Curr Opin Immunol 2000 Apr;12(2):226.]. *Curr Opin Immunol* 1999;11:648-656.
- Choon-jin O. Inflammantory Bowel Disease. In Guan R et al, editors. Management of Common Gastroenterological Problems: A Malaysia & Singapore Perspective. 4th ed. Singapore: Ezyhealth (Singapore) Pte Ltd.; 2006. P. 116-22.
- Daniel k. Podolsky, 2002. *N Engl J Med*, Vol. 347, pg. 417
- Djojongrat D. Inflammantory Bowel Disease: Alur Diagnosis dan Pengobatannya di Indonesia. Dalam: Sudoyo AW dkk, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid I. Edisi ke-4. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2006. Hal. 386-90
- Doetze A, Satoguina J, Burchard G, Rau T, Loliger C, Fleischer B, Hoerauf A. Antigen-specific cellular hyporesponsiveness in a chronic human helminth infection is mediated by T(h)3/T(r)1-type cytokines IL-10 and transforming growth factorbeta but not by a T(h)1 to T(h)2 shift. *Intern Immunol* 2000;12:623-630.
- Endharti,Agustina Tri., Al Okuno Y. 2011. *Journal of Immunology*. 186, pg 41-52.

- Elliott, D. E., Li, J., Blum, A., Metwali, A., Qadir, K., Urban, J. F. Jr., and Weinstock, J. V. (2003) Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 284, G385–G391.
- Faisal. 2010. Tampilan imunoekspresi carcinoembryonic Antigen (cea) pada lesi kolitis ulserosa, Displasia dan adenokarsinoma kolon. (<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/24995/7/Cover.pdf>. Di akses tanggal 30 September 2012).
- Friedman, S., Blumberg, R.S. 2005. Inflammatory Bowel Disease. In: Fauci, A.S., Kasper, D.L., Longo, D.L., Eugene, B., Hauser, S.L., Jameson, L.J., *et al.* *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th ed. New York: Mc Graw Hill. p.1776-89
- Ghosh, K., and P. J. Hotez. 1999. Antibody-dependent reductions in mouse hookworm burden after vaccination with *Ancylostoma caninum* secreted protein 1. *J. Infect. Dis.* 180: 1674–1681.
- Glickman RM. Penyakit RdangUsus (Kolitis Ulseratif dan penyakit Crohn). Dalam: Aslide AH, editor. *Harrison Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam*. Volume 4. Edisi ke-13. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2000. Hal. 1557-91
- Hunter SF. Ulcerative Colitis. 2003;60(3):137-44.
- IPD.2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta.
- Junqueira, LC and Carneiro J. 1989. *Histologi Dasar*. Edisi ke-3. Terjemahan Adji Dharma. Jakarta: EGC. P: 182 – 186.
- Jonh Hopkins, 2012. *Immunosuppressive Medications*. (<http://www.hopkinslupus.org/lupus-treatment/lupus-medications/immunosuppressive-medications/>. Diakses 1 Oktober 2012).
- Jugde TA, Lichtenstein GR. Inflammatory Bowel Disease. In: Friedman SL, McQuaid KR, Grendel JH, editors. *Current Diagnosis and Treatment in Gastroenterology*. 2nd ed. International ed: McGraw-Hill; 2003. p. 08-30.
- Kabashima K, Saji T, Murata T, Nagamachi M, Matsuoka T, Segi E, Tsuboi K, Sugimoto Y, Kobayashi T, Miyachi Y, Ichikawa A, Narumiya S. The prostaglandin receptor EP4 suppresses colitis, mucosal damage and CD4 cell activation in the gut. *J Clin Invest* 2002;109:883-893.
- Kim JC, Jeong CS, Kim HC, Yu CS, Kang GH, Lee MG. Isolated splenic metastasis from colorectal carcinoma: a case report. *J Korean Med Sci* 2000; 15: 355-358

- Kullberg MC, Pearce EJ, Hieny SE, Sher A, Berzofsky JA. Infection with *Schistosoma mansoni* alters Th1/Th2 cytokine responses to a non-parasite antigen. *J Immunol* 1992;148:3264-3270.
- Kumar V., Abbas A.K., Fausto N. 2005. Cellular adaptation, cell injury, and cell death. In: Kumar V., Abbas A.K, Fausto N., eds. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 7th ed. Philadelphia, USA: Elsevier Inc. p.846-51
- Lashner BA. Recommendations for colorectal cancer screening in ulcerative colitis: a review of research from a single university-based surveillance program. *Am J Gastroenterol* 1992;87:168-75.
- Loftus EV Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease. 2004;126(6):1504-17
- Lugering A, Schmidt M, Lugering N, Pauels HG, Domschke W, Ku-charzik T. 2001. Infliximab induces apoptosis in monocytes from patients with chronic active Crohn's disease by using a caspase-dependent pathway. *Gastroenterology*;121:1145-57.
- McCoy, K. D., M. Stoel, R. Stettler, P. Merky, K. Fink, B. M. Senn, C. Schaer, J. Massacand, B. Odermatt, H. C. Oettgen, et al. 2008. Polyclonal and specific antibodies mediate protective immunity against enteric helminth infection. *Cell Host Microbe* 4: 362-373.
- Mungky wardanela, 2008. Studi histopatologi pengaruh pemberian enterotoksin enterobacter sakazakii pada mencit (*mus musculus*) neonatus. Laporan Penelitian IPB Dirdikti. Depdiknas
- Murna IW. Gambaran Radiologi Pada Inflammatory Bowel Disease (IBD). Dalam: Simadibrata M, Syam AF, editor. *Update in Gastroenterology 2005*. Jakarta: Pusat Informasi dan Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI; 2005. Hal. 70-9.
- Odze RD. Adenomas and adenoma-like DALMs in chronic ulcerative colitis: a clinical, pathological, and molecular review. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1746-50.
- Pone Wabo., J.; Fossi Tankoua, O.; Yondo, J.; Komtangi, M. C.; Mbida, M.; Bilong Bilong, C. F. (2011). "The in Vitro Effects of Aqueous and Ethanolic Extracts of the Leaves of *Ageratum conyzoides* (Asteraceae) on Three Life Cycle Stages of the Parasitic Nematode *Heligmosomoides bakeri* (Nematoda: Heligmosomatidae)". *Veterinary Medicine International* **2011**: 1
- Salas SD, Heifetz R, Barrett-Connor E. Intestinal parasites in Central American immigrants in the United States. *Arch Intern Med* 1990;150:1514-1516.

- Sacco R, Hagen M, Sandor M, Weinstock JV, Lynch RG. Established T(H1) granulomatous responses induced by active Mycobacterium avium infection switch to T(H2) following challenge with Schistosoma mansoni. Clin Immunol 2002;104:274-281.
- Shelton AA, Lehman RE, Schrock TR, Welton ML. Retrospective review of colorectal cancer in ulcerative colitis at a tertiary center. Arch Surg 1996;131:806-10.
- Summer D., Setiawan, T., Metwali, A., Blum, A. M., Ince, M. N., Urban, J. F., Jr., Elliott, D. E. And Weinstock, J. V. (2005). *Heligmosomoides polygyrus* promotes regulatory T-cell cytokine production in the murine normal distal intestine. *European Journal of Immunology*, 75, 4655-4663.
- Sutton Murthy, H.S. Cooper, H. Shim, R.S. Shah, S.A. Ibrahim, D.J. Sedergran, Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin, Dig. Dis. Sci. 38 (2008) 1722-1734.
- Tong, T., Zhao,W.,Wu, Y.Q., Chang, Y.,Wang, Q.T., Zhang, L.L.,Wei,W., 2010. Chicken type II collagen induced immune balance of main subtype of helper T cells in mesenteric lymph node lymphocytes in rats with collagen-induced arthritis. *Inflamm. Res.* 59, 369-377.
- Wang Y.,Bethony, J., A. Loukas, M. Smout, S. Brooker, S. Mendez, J. Plieskatt, G. Goud, M. E. Bottazzi, B. Zhan, et al. 2009. Antibodies against a secreted protein from hookworm larvae reduce the intensity of hookworm infection in humans and vaccinated laboratory animals. *FASEB J.* 19: 1743-1745.
- Witts L.,Truelove S C. Cortisone in ulcerative colitis: final report on a therapeutic trial. *BMJ.* 1995;2:1041-1048
- Weinstock,W., D. P. Harris, F. Sprague, B. Mousseau, M. Makris, K. Kusser, T. Honjo, K. Mohrs, M. Mohrs, T. Randall, and F. E. Lund. 2005. Cytokineproducing effector B cells regulate type 2 immunity to *H. polygyrus*. *Immunity* 30: 421-433.
- van Hogezaand R.A., Eichhorn R.F., Choudry A., Veenendaal R.A. and 491 *Dose-dependent effects of DSS on mouse colon carcinogenesis* Lamers C.B. (2002). Malignancies in inflammatory bowel disease: fact or fiction? *Scand. J. Gastroenterol. Suppl* 236, 48-53.
- Yamada T. *Inflammatory Bowel Disease. Handbook of Gastroenterology.* 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. P. 357-73

LAMPIRAN

Hasil Statistik

Report

Perlakuan	Mean	N	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kontrol +	1.1675E2	4	21.18765	90.00	140.00
DSS 5%+H polygyrus 10%	79.0000	4	10.55146	68.00	93.00
DSS 5%+H polygyrus 20%	64.2500	4	15.10794	47.00	82.00
DSS 5%+H polygyrus 40%	12.7500	4	5.56028	6.00	19.00
kontrol -	5.7500	4	3.59398	3.00	11.00
Total	55.7000	20	44.26487	3.00	140.00

UJI NORMALITAS KOLMOGOROV SMIRNOV DATA JUMLAH SEL PMN

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		sel_PMN
N		20
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	55.7000
	Std. Deviation	4.42649E1
Most Extreme Differences	Absolute	.196
	Positive	.196
	Negative	-.117
Kolmogorov-Smirnov Z		.879
Asymp. Sig. (2-tailed)		.423

a. Test distribution is Normal.

ONEWAY sel\_PMN BY perlakuan

/STATISTICS HOMOGENEITY

/MISSING ANALYSIS

/POSTHOC=TUKEY ALPHA(0.05).

**UJI HOMOGENITAS VARIAN DATA JUMLAH SEL PMN**

**Test of Homogeneity of Variances**

sel\_PMN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.787	4	15	.065

**UJI BEDA ONEWAY ANOVA**

**ANOVA**

sel\_PMN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34731.200	4	8682.800	52.159	.000
Within Groups	2497.000	15	166.467		
Total	37228.200	19			

**UJI MULTI KOMPARASI Post Hoc TUKEY**

**Multiple Comparisons**

sel\_PMN

Tukey HSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol +	DSS 5%+H polygyrus 10%	37.75000*	9.12323	.007	9.5782	65.9218
	DSS 5%+H polygyrus 20%	52.50000*	9.12323	.000	24.3282	80.6718
	DSS 5%+H polygyrus 40%	104.00000*	9.12323	.000	75.8282	132.1718
	kontrol -	111.00000*	9.12323	.000	82.8282	139.1718
DSS 5%+H polygyrus 10%	kontrol +	-37.75000*	9.12323	.007	-65.9218	-9.5782
	DSS 5%+H polygyrus 20%	14.75000	9.12323	.510	-13.4218	42.9218
	DSS 5%+H polygyrus 40%	66.25000*	9.12323	.000	38.0782	94.4218
	kontrol -	73.25000*	9.12323	.000	45.0782	101.4218
DSS 5%+H polygyrus 20%	kontrol +	-52.50000*	9.12323	.000	-80.6718	-24.3282
	DSS 5%+H polygyrus 10%	-14.75000	9.12323	.510	-42.9218	13.4218
	DSS 5%+H polygyrus 40%	51.50000*	9.12323	.000	23.3282	79.6718
	kontrol -	58.50000*	9.12323	.000	30.3282	86.6718
DSS 5%+H polygyrus 40%	kontrol +	-104.00000*	9.12323	.000	-132.1718	-75.8282
	DSS 5%+H polygyrus 10%	-66.25000*	9.12323	.000	-94.4218	-38.0782
	DSS 5%+H polygyrus 20%	-51.50000*	9.12323	.000	-79.6718	-23.3282
	kontrol -	7.00000	9.12323	.936	-21.1718	35.1718

kontrol -	kontrol +	-111.00000*	9.12323	.000	-139.1718	-82.8282
	DSS 5%+H polygyrus 10%	-73.25000*	9.12323	.000	-101.4218	-45.0782
	DSS 5%+H polygyrus 20%	-58.50000*	9.12323	.000	-86.6718	-30.3282
	DSS 5%+H polygyrus 40%	-7.00000	9.12323	.936	-35.1718	21.1718

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Homogeneous Subsets

sel_PMN				
Tukey HSD				
perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol -	4	5.7500		
DSS 5%+H polygyrus 40%	4	12.7500		
DSS 5%+H polygyrus 20%	4		64.2500	
DSS 5%+H polygyrus 10%	4		79.0000	
kontrol +	4			1.1675E2
Sig.		.936	.510	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



### UJI KORELASI PEARSON

[DataSet0]

Correlations			
		perlakuan	sel_PMN
perlakuan	Pearson Correlation	1	-.945**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
sel_PMN	Pearson Correlation	-.945**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

\* Curve Estimation.

### UJI REGRESI LINIER

[DataSet0]

Variables Entered/Removed <sup>b</sup>			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	perlakuan <sup>a</sup>		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: sel\_PMN

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.945 <sup>a</sup>	.893	.887	14.89402

a. Predictors: (Constant), perlakuan

**ANOVA<sup>b</sup>**

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	33235.225	1	33235.225	149.822	.000 <sup>a</sup>
	Residual	3992.975	18	221.832		
	Total	37228.200	19			

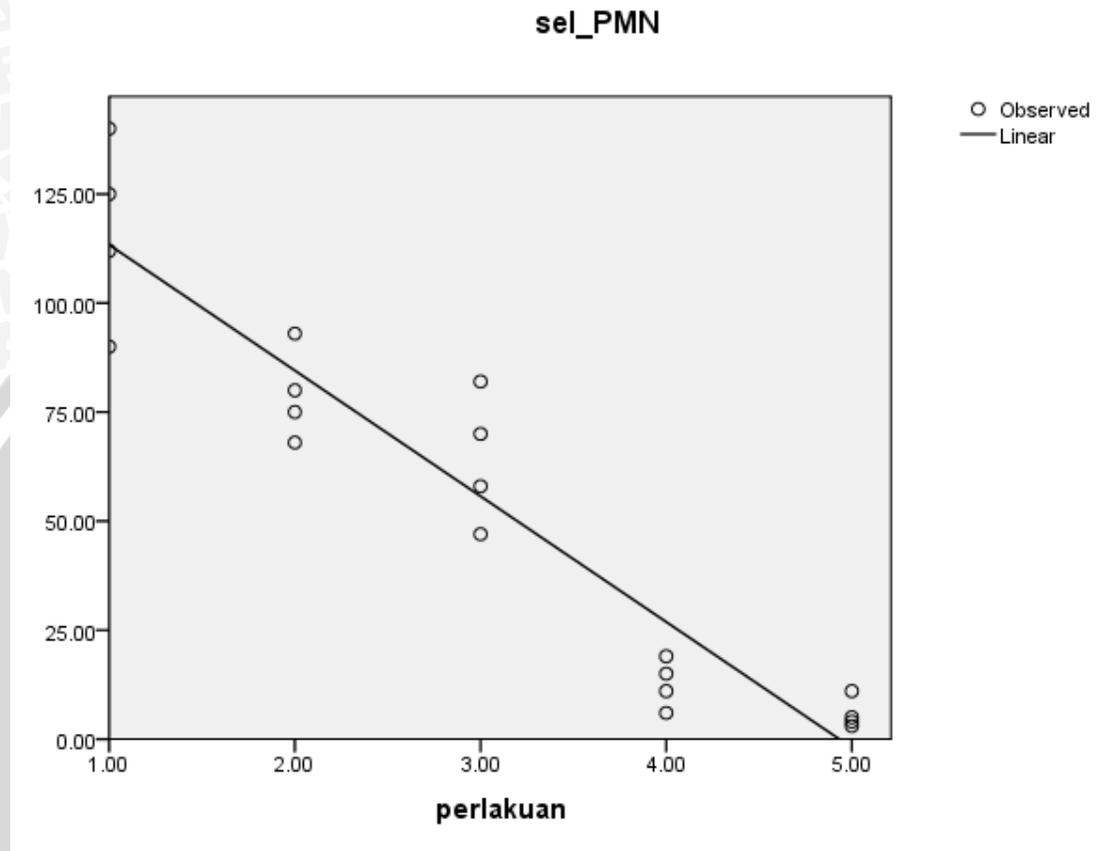
a. Predictors: (Constant), perlakuan

b. Dependent Variable: sel\_PMN

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	142.175	7.810		18.203	.000
	perlakuan	-28.825	2.355	-.945	-12.240	.000

a. Dependent Variable: sel\_PMN

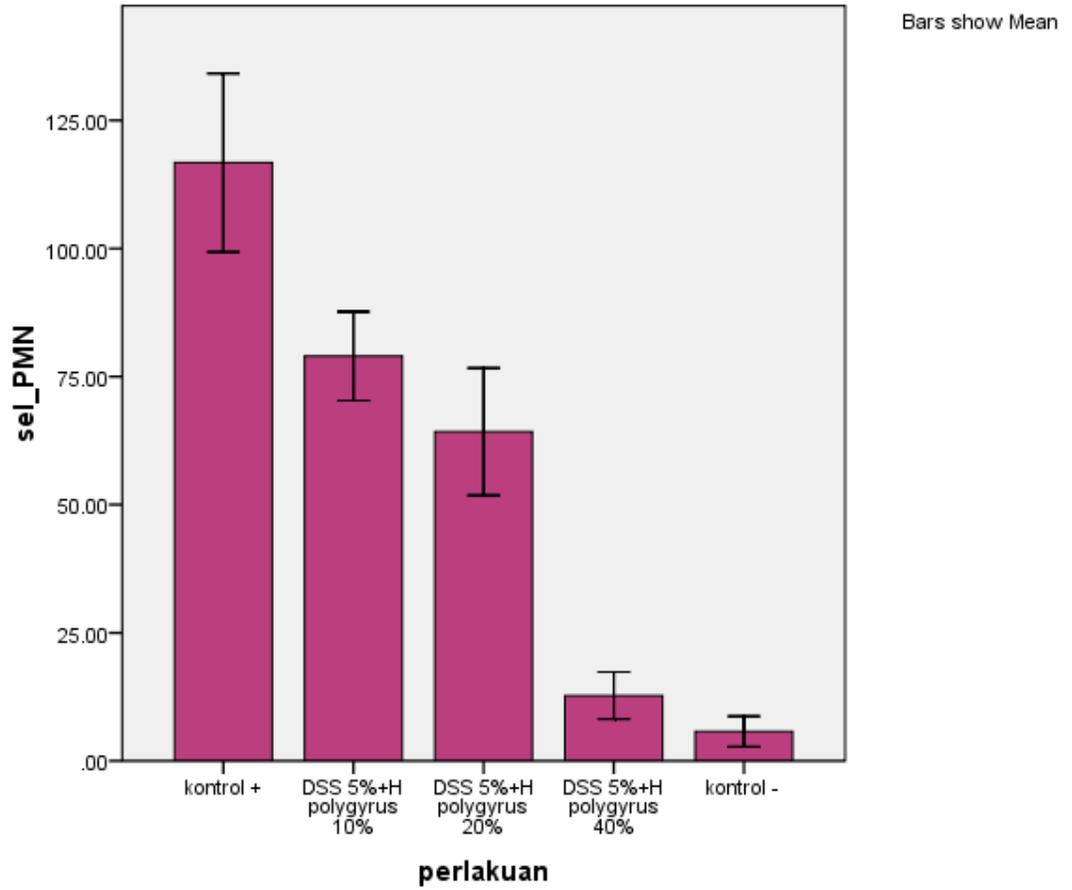


```

IGRAPH
/VIEWNAME='Bar Chart'
/X1=VAR(perlakuan) TYPE=CATEGORICAL
/Y=VAR(sel_PMN) TYPE=SCALE
/COORDINATE=VERTICAL
/YLENGTH=5.2
/X1LENGTH=6.5
/CHARTLOOK='NONE'
/CATORDER VAR(perlakuan) (ASCENDING VALUES OMITEMPTY)
/BAR(MEAN) KEY=ON SHAPE=RECTANGLE BASELINE=AUTO
/ERRORBAR CI(95.0) CAPWIDTH(45) CAPSTYLE=T.
    
```

### Interactive Graph

[DataSet0]



**Data Berat Badan dan Panjang Kolon Mencit Setelah Dibedah**

Perlakuan	Berat	Panjang
A1	1,8495 gr	11 cm
B1	1,5461 gr	8,5 cm
C1	0,9722 gr	8,5 cm
D1	1,5479 gr	10 cm
E1	1,5306 gr	10 cm
A2	1,6794 gr	11 cm
B2	1,5029 gr	8,5 cm
C2	1,7346 gr	10 cm
D2	1,5151 gr	10,5 cm
E2	1,3035 gr	11 cm
A3	1,6421 gr---- 0,7552 gr	11 cm
B3	1,0287 gr---- 0,4161 gr	7 cm
C3	2,0729 gr---- 1,0267 gr	9 cm
D3	1,8995 gr---- 0,9377 gr	10 cm
E3	1,7877 gr---- 0,8613 gr	10,5 cm
A4	1,3940 gr---- 0,7952 gr	11,5 cm
B4	1,3714 gr---- 0,5558 gr	10 cm
C4	1,1641 gr---- 0,8089 gr	11 cm
D4	2,1731 gr---- 1,1099 gr	11,5 cm
E4	1,5430 gr---- 0,7908 gr	12,5 cm

Rata-rata Berat Badan Mencit Dalam Gram

	Kontrol	DSS	DSS + Ekstrak 0.1	DSS + Ekstrak 0.2	DSS + Ekstrak 0.4
0	25.75	25.25	24.75	25.25	24.5
1	26.75	26.25	25.75	26.25	25.5
2	27.5	27.25	26.75	27.5	26.5
3	28.5	28.25	27.75	28.5	27.75
4	29.5	29.25	28.75	29.5	28.75
5	30.5	30.25	29.74	30.5	29.75
6	31.5	29.75	30.75	31.5	30.75
7	32.5	28.75	30.75	32.5	31.75
8	33.5	27.75	29.75	32.25	32.25
9	34.25	27.25	28.75	31	33
10	35.25	26.25	27.75	30.25	34
11	36.25	25.25	26.75	29.25	34.75

Foto Kolon Mencit Setelah Dibedah



**Lampiran Pernyataan Keaslian Tulisan****PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mangkubumi Putra Wijaya

NIM : 0910710092

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 19 Februari 2013

Yang Membuat Pernyataan,

Mangkubumi Putra Wijaya

0910710092