

**EFEK TERAPI YOGURT SUSU SAPI TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI DAN EKSPRESI TUMOR NEKROSIS
FAKTOR ALFA (TNF- α) ILEUM TIKUS (*Rattus
norvegicus*) MODEL INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE (IBD) INDUKSI
INDOMETASIN**

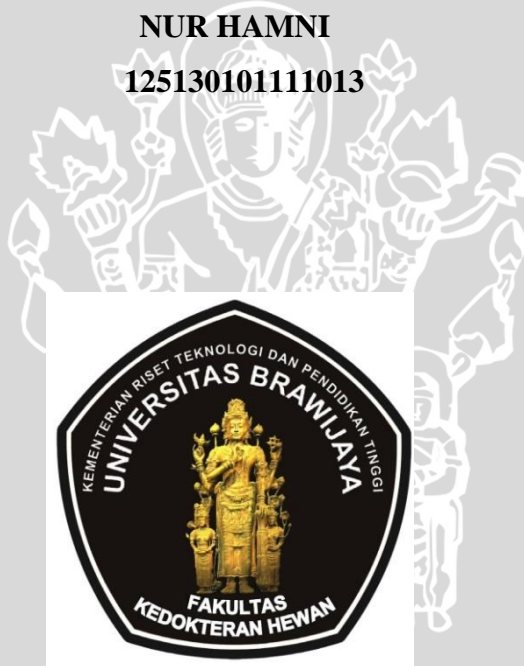
SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

NUR HAMNI

125130101111013



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2016

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

Efek Terapi *Yogurt* Susu Sapi terhadap Gambaran Histopatologi dan Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) Ileum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Induksi Indometasin

Oleh :

NUR HAMNI

125130101111013

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 29 Desember 2016 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Masdiana C. Padaga, drh., M.App. Sc
NIP. 19560210 198403 2 001

Wibi Riawan, S.Si., M.Sc
NIP. 19770131 200501 1 001

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Hamni

NIM : 125130101111013

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Efek Terapi *Yogurt* Susu Sapi terhadap Gambaran Histopatologi dan Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor (TNF- α) Ileum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Induksi Indometasin

Dengan ini menyatakan bahwa`:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Desember 2016
Yang Menyatakan,

Nur Hamni
NIM. 125130101111013

Efek Terapi *Yogurt* Susu Sapi terhadap Gambaran Histopatologi dan Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) Ileum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Induksi Indometasin

ABSTRAK

Inflammatory Bowel Diseases (IBD) merupakan penyakit inflamasi kronis yang menyerang saluran pencernaan terutama usus halus dan kolon. Obat golongan NSAID seperti indometasin merupakan salah satu penyebab terjadinya keparahan IBD. *Yogurt* susu sapi mengandung bakteri asam laktat (BAL) dan banyak senyawa antioksidan (*selenium*, *glutathione peroxidase*, dan *thioredoxin reduktase*) serta mengandung bioaktif peptida seperti *lactoferin* yang dapat digunakan sebagai terapi pada tikus model IBD. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek terapi *yogurt* susu sapi terhadap perubahan histopatologi dan ekspresi tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) ileum pada tikus model IBD. Tikus model IBD dihasilkan dengan cara induksi indometasin 15 mg/kg BB secara per oral. Penelitian ini menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) jantan berumur 8-12 minggu yang dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif (IBD), kelompok terapi dosis 300 mg/kg BB, 600 mg/kg BB, dan 900 mg/kg BB. Pemberian terapi *yogurt* diberikan selama 14 hari secara per oral. Perubahan histopatologi dan Ekspresi TNF- α ileum diamati menggunakan mikroskop olympus BX51. Data yang diperoleh berupa data kualitatif yang dianalisis secara deskriptif. Selain itu ekspresi TNF- α juga dianalisa secara kuantitatif dengan *One Way Analysis Of Variance* (ANOVA) dilanjutkan uji Tukey dengan $\alpha = 0,05$. Hasil penelitian menunjukkan pemberian terapi *yogurt* susu sapi dapat memperbaiki kerusakan epitel serta menurunkan infiltrasi sel radang pada ileum dan secara signifikan ($p < 0,05$) dapat menurunkan ekspresi TNF- α dan pada tikus model IBD. Dosis efektif untuk terapi IBD adalah dosis 900 mg/kg BB. Disimpulkan bahwa *yogurt* susu sapi dapat digunakan sebagai terapi IBD.

Kata kunci : *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), NSAIDs, Indometasin, *Yogurt* susu sapi, Ekspresi TNF- α , infiltrasi sel radang.

The Therapy Effect of Cow Milk Yogurt on Histopathological and The Expression of Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-A) on Rats (*Rattus Norvegicus*) Ileum of Inflammatory Bowel Disease (IBD) Model Induced by Indomethacin

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Diseases (IBD) is chronic inflammatory disease that attacks the digestive tract, especially the small intestine and colon. Drugs of NSAID group such as indomethacin is one caused of IBD. Cow milk yogurt contains lactic acid bacteria (LAB) and antioxidant compounds (*selenium, glutathione peroxidase, and thioredoxin reductase*) and also bioactive peptide such as *lactoferrin* were used as a therapy agent on IBD. The purpose of this research was to study the effect of therapy of cow milk yogurt on the histopathological and expression of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in rat ileum of IBD model. Rats of IBD model were prepared by orally indomethacin of 15 mg/kg BW. This research used male rats (*Rattus norvegicus*) aged 8-12 weeks which were divided into five treatment groups; they are negative control group, positive control group (IBD), therapy groups with the doses of 300 mg/kg BW, 600 mg/kg BW, and 900 mg/kg BW. Yogurt was given for 14 days orally. Histopathological changes and TNF- α expression of ileum were observed using Olympus BX51 microscope. The collected data were in the form of qualitative data analyzed descriptively. Moreover, TNF- α expression was also analyzed quantitatively by *One Way Analysis Of Variance* (ANOVA) continued by Tukey test at $\alpha = 0.05$. The research results showed that the administration of therapy of the cow milk yogurt can repair the epithelial damage and reduce the inflammatory cell infiltration in the ileum and significantly ($p < 0.05$) can decrease the TNF- α expression in rat of IBD model. The effective dose therapy of IBD is 900 mg/kg BW. It was concluded that the cow milk yogurt can be used as IBD therapy.

Keywords: *Inflammatory Bowel Disease* (IBD), NSAIDs, Indomethacin, Cow milk yogurt, TNF- α expression, inflammatory cell infiltration.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT Yang mengatur segala urusan manusia dan atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini yang berjudul “**Efek Terapi Yogurt Susu Sapi terhadap Gambaran Histopatologi dan Ekspresi Tumor Nekrosis Faktor Alfa (TNF- α) Ileum Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease (IBD) Induksi Indometasin**”. Sholawat dan salam semoga tetap tercurah kepada Nabi Muhammad SAW.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Masdiana C. Padaga, drh., M.App.,Sc selaku dosen pembimbing I, yang selalu memberikan nasehat, arahan, meluangkan waktu dan dengan sabar membimbing serta memberikan dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
2. Wibi Riawan, S.Si., M.Sc selaku dosen pembimbing II, yang selalu memberikan nasehat, arahan, meluangkan waktu dan dengan sabar membimbing serta memberikan dukungan kepada penulis dalam penyusunan dan penyempurnaan skripsi ini.
3. drh. Dodik Prasetyo, M. Vet. Selaku penguji I, yang telah meluangkan waktu dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
4. drh. Indah Amalia Amri, M.Si. Selaku penguji II, yang telah meluangkan waktu dan memberikan masukan serta arahan kepada penulis dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang memberikan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Seluruh staff, teknisi dan laboran Laboratorium KESMAVET FKH UB, Laboratorium Biosain UB dan Laboratorium Biokimia FK UB atas segala bantuan, dukungan, dan kerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini.

7. Kedua orang tua penulis, abah M. Imtas dan Ibunda Eltim Yunidar, yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan, pengorbanan baik secara moril maupun materil kepada penulis, semoga Allah SWT. membalas dengan sebaik-baik balasan.
8. Adik penulis Fitri Wulandari, kakak-kakak sepupu penulis Nur Fadillah dan Uni Muslimah Hanika Wati dan adik-adik sepupu penulis yang telah memberikan do'a dan semangat dalam penyusunan skripsi ini.
9. Sahabat, teman penelitian dan tim "My IBD", Shilvia Mukhti, Puspita Dwi Laudiyah, Rina Rahmawati, Dina Amalia, Roni Aniza dan sanak-sanak Minang nan di Malang atas motivasi, belajar bersama tentang makna kehidupan, dan khususnya dalam semangat berjuang bersama di Kota Rantau.
10. Teman-teman seperjuangan Kolega FKH UB angkatan 2012, khususnya Vena'12, keluarga besar asisten Anatomi Veteriner Makro, keluarga besar asisten Bedah Veteriner, kabinet HARMONIS DPM FKH UB 2014 dan Purple Petshop family yang telah menjadi keluarga baru selama proses pendidikan di Kedokteran Hewan dan menjadi pendorong untuk meraih kesuksesan bersama.
11. Serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan dan penyusunan laporan ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Malang, Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

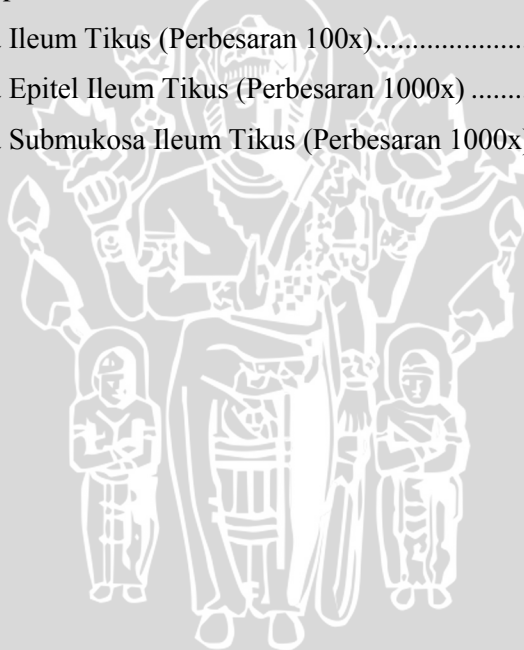
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD).....	7
2.1.1 Etiologi.....	7
2.1.2 Patomekanisme.....	8
2.1.3 Histopatologi Ileum pada <i>Inflammatory Bowel Disease</i>	10
2.1.4 Ekspresi <i>Tumor Nekrosis Faktor Alfa</i> (TNF- α) Akibat IBD	11
2.2 Hewan Coba Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model IBD Induksi	
Indometasin	13
2.3 <i>Yogurt</i> Susu Sapi	15
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	18
3.1 Kerangka Konseptual	18
3.2 Hipotesis Penelitian.....	20
BAB 4. METODE PENELITIAN	22
4.1 Tempat Dan Waktu Penelitian	22
4.2 Alat dan Bahan Penelitian	22
4.3 Rancangan Penelitian	23
4.4 Sampel Penelitian	24
4.5 Variabel Penelitian	25
4.6 Tahapan Penelitian	25
4.6.1 Preparasi Hewan Coba Tikus	25
4.6.2 Tatalaksana Pembuatan Hewan model <i>Inflammatory Bowel</i>	
<i>Deasee</i> (IBD) dengan Induksi Indometasin.....	26
4.6.3 Preparasi <i>Yogurt</i> dan Penentuan Dosis.....	27
4.6.4 Pemberian Terapi <i>Yogurt</i> pada Hewan Model IBD	29

4.6.5 Preparasi Ileum Tikus untuk Pembuatan Preparat Histopatologi dan Preparat Imunohistokimia.....	29
4.6.6 Pembuatan Preparat Histopatologi dengan Pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE)	30
4.6.7 Penentuan Ekspresi TNF- α dengan Imunohistokimia.....	32
4.7 Analisa Data	33
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
5.1 Efek Terapi <i>Yogurt</i> Susu Sapi Terhadap Gambaran Histopatologi Ileum Tikus Model <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD) Hasil Induksi Indometasin	34
5.2 Efek Terapi <i>Yogurt</i> Susu Sapi Terhadap Ekspresi TNF- α pada Ileum Tikus Model <i>Inflammatory Bowel Disease</i> (IBD) Hasil Induksi Indometasin	42
BAB 6. PENUTUP	52
6.1 Kesimpulan.....	52
6.2 Saran.....	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN	58



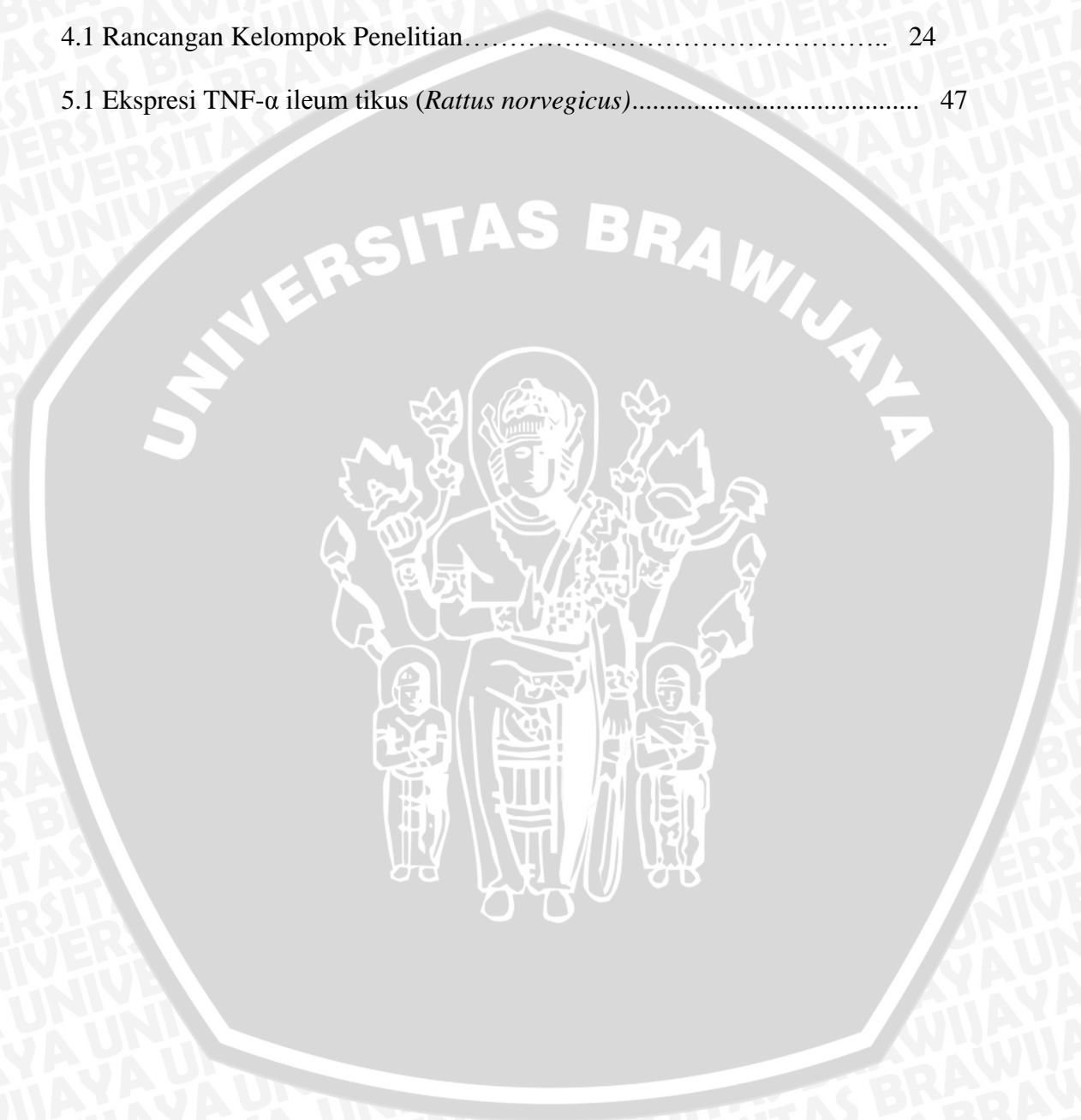
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Patogenesis <i>Inflammatory Bowel Disease</i>	9
2.2 Histologi ileum normal dan Histopatologi ileum yang mengalami IBD ...	11
3.1 Kerangka Konseptual	18
5.1 Histopatologi Ileum Tikus (Pewarnaan HE 100x).....	35
5.2 Histopatologi Epitel Ileum Tikus (Pewarnaan HE 1000x)	37
5.3 Infiltrasi Sel Radang pada Submukosa Ileum Tikus.....	38
5.4 Ekspresi TNF- α pada Ileum Tikus (Perbesaran 100x).....	43
5.5 Ekspresi TNF- α pada Epitel Ileum Tikus (Perbesaran 1000x)	44
5.6 Ekspresi TNF- α pada Submukosa Ileum Tikus (Perbesaran 1000x)	45



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian.....	24
5.1 Ekspresi TNF- α ileum tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	47



DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

<u>Simbol/Singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i>
APCs	<i>Antigen-presenting cell</i>
BAL	Bakteri Asam Laktat
BB	Berat Badan
BNJ	Beda Nyata Jujur
CD	<i>Crohn Disease</i>
CFU	<i>Colony-Forming Unit</i>
COX-1	<i>sikloxygenase-1</i>
COX-2	<i>sikloxygenase-2</i>
HE	<i>Hematoksin-Eosin</i>
IBD	<i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IBF	<i>intestinal barrier function</i>
IFN γ	Interferon γ
IHK	Imunohistokimia
IL-1	<i>Interleukin-1</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-12	<i>Interleukin-12</i>
Kg	Kilogram
KUD	Koperasi Unit Desa
MIPA	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
mg	Miligram
ml	Mililiter
NF-kB	<i>Nuclear Factor Kappa B</i>
NSAIDs	<i>Non Steroid Anti-Inflammatory Drugs</i>
PBS	<i>Phosphat Buffer Saline</i>
PFA	<i>Paraformaldehyde</i>
RAL	Rancangan Acak Lengkap
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SH-ARP	<i>Strep-Avidin-Horseradish Peroxidase</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Science</i>
TH1	T helper 1
TH2	T helper 2
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor Alfa</i>
UC	<i>Ulcerative Colitis</i>
UPHP	Unit Pengembangan Hewan Percobaan

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik.....	59
2. Kerangka Operasional Rancangan Penelitian.....	60
3. Perhitungan Dosis Indometasin.....	62
4. <i>Yogurt</i> Susu Sapi.....	63
4.1 Pembuatan <i>Yogurt</i> Susu Sapi.....	63
4.2 Perhitungan Dosis <i>Yogurt</i> Susu Sapi.....	66
5. Pembuatan Preparat Histopatologi Ileum Dengan Pewarnaan <i>Hematoksilin-Eosin (HE)</i>	69
6. Metode Imunohistokimia (TNF- α).....	70
7. Hasil Perhitungan Ekspresi TNF- α	71
8. Data dan Uji Statistik Ekspresi TNF- α	74
8.1 Uji Normalitas Data.....	75
8.2 Uji Homogenitas.....	75
8.3 Uji <i>One Way Anova</i>	75
8.4 <i>Post Hoc Tests</i>	76
8.5 Uji Tukey.....	77
8.6 Grafik ekspresi TNF- α	77