

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hewan Coba Tikus (*Rattus norvegicus*) Model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) Hasil Induksi Indometasin

Hewan coba atau hewan laboratorium merupakan hewan yang sengaja dipelihara dan diternakkan untuk keperluan penelitian atau pengamatan laboratoris. Spesies hewan yang digunakan sebagai hewan coba model IBD sangat beragam, salah satunya adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Rattus norvegicus* sangat sering digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian yang berhubungan dengan pencernaan karena memiliki beberapa kelebihan diantaranya, mudah mendapatkan kelompok dengan ukuran yang seragam, mudah untuk melakukan sonde lambung karena tidak akan terjadi respon muntah. Tikus putih juga memiliki fisiologi dan respon endokrin yang mirip dengan manusia sehingga cocok untuk hewan coba (Zidni, 2010). Penelitian lebih sering menggunakan tikus jantan sebagai hewan coba karena hormonalnya lebih stabil jika dibandingkan dengan tikus betina yang cenderung berfluktuasi sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian.



Gambar 2.1 *Rattus norvegicus* (Johnson, 2012)

Persiapan hewan coba (*Rattus norvegicus*) model IBD melalui pemberian obat-obatan NSAID seperti Indometasin (Tanaka *et al.*, 2004). Indometasin adalah obat yang memiliki efek sebagai antiinflamasi. Pemakaian obat ini secara berkelanjutan dapat memberikan efek samping berupa kerusakan dan inflamasi pada gastrointestinal. Terbukti bahwa 50% pasien yang menggunakan terapi NSAIDs mengalami kerusakan pada usus halus (Laine, 2002; Higuchi *et al.*, 2009).

Mekanisme kerja dari indometasin yang disondekan pada lambung tikus adalah sebagai penghambat COX nonselektif yang poten sehingga dapat menurunkan pembentukan prekursor prostaglandin I₂ (Katzung, 2010). Pembentukan prostaglandin I₂ yang terhambat akan mengakibatkan berkurangnya perlindungan terhadap mukosa barrier saluran pencernaan tikus, khususnya jejunum (Takeuchi *et al.*, 2003). Indometasin yang masuk ke dalam jejunum akan dikenali sebagai antigen oleh sel T helper dan akan mengaktifkan makrofag untuk melepaskan mediator inflamasi dalam jumlah yang banyak seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS), sehingga terjadi inflamasi (Laroux *et al.*, 2001).

Inflamasi yang terjadi sepanjang saluran pencernaan akan menginduksi pelepasan sel inflamasi seperti neutrofil dan makrofag yang akan menghasilkan enzim proteolitik berupa protease. Protease merupakan enzim proteolitik yang merespon terhadap adanya inflamasi. Inflamasi yang terjadi pada jejunum tikus yang menderita IBD akan tergambar dengan tingginya aktifitas protease jejunum. Protease berfungsi menyederhanakan molekul protein dengan menghidrolisis ikatan peptide, sehingga sangat penting perannya dalam pencernaan. Protease juga berfungsi sebagai

mediator inflamasi, aktivasi sitokin dan remodeling jaringan. Inflamasi merupakan reaksi lokal jaringan terhadap infeksi agen patogen yang akan melibatkan sel mediator seperti, neutrofil, dan makrofag yang memproduksi enzim protease sehingga akan menimbulkan gejala IBD (Baratawidjaya, 2013).

Enzim protease yang terlibat dalam proses inflamasi adalah protease serin (elastase neutrofil), merupakan jenis protease yang tersimpan dalam neutrofil yang berfungsi sebagai pertahanan antimikroba dengan mekanisme fagolisosom neutrofil (Segal, 2005). Aktivitas protease yang tidak terkontrol pada jaringan akan menyebabkan kerusakan pada jaringan melalui mekanisme fagolisosom. Tingginya aktivitas protease pada jaringan dapat digunakan sebagai indikasi terjadinya inflamasi serta tingkat keparahan IBD.

Radikal bebas pada kerusakan jaringan akibat IBD dapat menyebabkan terjadinya fragmentasi sehingga mempercepat proses proteolisi. Jaringan yang mengalami kerusakan akan memproduksi protein tertentu ke dalam sel dan serum sebagai penanda adanya kelainan atau kerusakan. Kerusakan pada jaringan akan menimbulkan munculnya *heat shock protein* (HSP) yang menjadi penanda adanya kerusakan sel akibat gangguan yang bersifat fisiologik dan gangguan yang berasal dari lingkungan. *Heat shock protein* berfungsi melindungi sel dari kerusakan (Snoeck et al., 2011).

2.2 *Inflammatory Bowel Disease (IBD)*

2.2.1 Etiologi

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan gangguan inflamasi kronis pada saluran pencernaan mulai dari mulut sampai rektum (Ghazi, 2015). *Inflammatory Bowel Disease (IBD)* dapat disebabkan oleh infeksi bakteri, seperti *Helicobacter pylori* dan enterohepatic *Helicobacter (EHH)*. Bakteri ini melakukan kolonisasi pada intestin dan hepar yang kemudian dapat menyebabkan terjadinya IBD. Keberadaan *Helicobacter pylori* biasanya menempel pada epitel disepanjang saluran pencernaan mulai dari lambung hingga *colon* yang mampu menyebabkan terjadinya IBD (Kenaar *et al.*, 2010). Gradel *et al.*, (2009) menjelaskan bahwa selain infeksi bakteri, IBD juga dapat disebabkan oleh faktor pakan yang kurang bersih, kelainan genetik, kegagalan dalam regulasi sistem imun dan akibat mengkonsumsi *Non Steroid Antiinflammatory Drugs (NSAID)* seperti indometasin, aspirin, ibuprofen, ketoprofen dan NSAID lainnya yang dapat menyebabkan penurunan aktivitas mukosa saluran pencernaan yang mengakibatkan terjadinya IBD (Tanaka *et al.*, 2004).

2.2.2 Patomekanisme

Indometasin yang disondekan pada tikus dengan dosis 15 mg/Kg BB dapat menyebabkan *Inflammatory Bowel Disease*. Kerja indometasin menghambat enzim *sikloxygenase-1 (COX-1)* menyebabkan penurunan perlindungan terhadap mukosa intestin. Peningkatan motilitas dari intestin dan iskemia pada mukosa saluran cerna, diikuti dengan terjadinya hipoksia. Kondisi ini mengakibatkan terjadinya kerusakan

sel dan kebocoran mitokondria. Kebocoran mitokondria akan menyebabkan keluarnya elektron-elektron yang akan ditangkap oleh Cu^{2+} dan Fe^{2+} yang kemudian berikatan dan menghasilkan ion O_2^- dan H_2O_2 . Ion ini berkonjugasi menghasilkan radikal hidroksil (OH^*) yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan struktur protein dan inflamasi sel (Konturek *et al.*, 2003).

Kerusakan struktur protein dan inflamasi yang terjadi pada sel mengakibatkan sel akan mengalami adaptasi sehingga pada saat sintesis protein akan dihasilkan *Heat Shock Protein* (HSP). *Heat Shock Protein* (HSP) adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response* (HSR) yang merupakan suatu respon genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperone*, protease dan protein lainnya yang berperan penting dalam pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded protein*. *Heat Shock Response* merupakan suatu tanggapan sel terhadap adanya gangguan pada sel baik yang bersifat fisiologik maupun yang berasal dari lingkungan (Westerheide SD *et al.*, 2005). *Heat Shock Protein* (HSP) berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru maupun protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak dan memisahkan protein yang rusak. Berdasarkan ukuran molekul dan fungsinya HSP dibagi dalam beberapa subkelas diantaranya HSP 100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 (*J-domain Proteins*) dan *Small HSP* (SHSP) (Lelj-Garolla B, *et al.*, 2006). Ekspresi HSP dapat diinduksi oleh banyak stresor seperti kenaikan temperatur, *small molecul toxicants*, infeksi, dan gangguan radikal bebas (Westerhaide SD, *et al.*, 2005).

Tingginya aktivitas radikal bebas mengakibatkan terjadinya stres oksidatif pada sel yang akan mengaktifkan makrofag untuk mengaktifasi sitokin proinflamatori. Sitokin proinflamatori seperti IL-1 β , TNF- α dan IL-6 akan merangsang migrasi neutrofil ke jaringan yang melepaskan enzim proteolitik berupa protease yang dapat menyebabkan inflamasi pada saluran pencernaan (Suliani, 2003). Protease merupakan enzim proteolitik yang merespon terhadap adanya inflamasi. Infamasi yang terjadi pada jejunum tikus yang menderita IBD akan tergambar dengan tingginya aktifitas protease jejunum. Protease berfungsi menyederhanakan molekul protein dengan menghidrolisis ikatan peptide, sehingga sangat penting perannya dalam pencernaan. Protease juga berfungsi sebagai mediator inflamasi, aktivasi sitokin dan remodeling jaringan. Inflamasi merupakan reaksi lokal jaringan terhadap infeksi agen patogen yang akan melibatkan sel mediator seperti, neutrofil, dan makrofag yang memproduksi enzim protease sehingga akan menimbulkan gejala IBD (Baratawidjaya, 2013).

Enzim protease yang terlibat dalam proses inflamasi adalah protease serin (elastase neutrofil), merupakan jenis protease yang tersimpan dalam neutrofil yang berfungsi sebagai pertahanan antimikroba dengan mekanisme fagolisosom neutrofil (Segal, 2005). Aktivitas protease yang tidak terkontrol pada jaringan akan menyebabkan kerusakan pada jaringan melalui mekanisme fagolisosom. Tingginya aktivitas protease pada jaringan dapat digunakan sebagai indikasi terjadinya inflamasi serta tingkat keparahan IBD.

2.3 Yogurt Susu Sapi

Yogurt merupakan susu fermentasi yang dalam prosesnya melibatkan aktivitas mikroorganisme yang menguntungkan, sehingga dapat meningkatkan nilai guna susu (Tejasari, 2005). Saleh (2004) menyatakan bahwa proses pengolahan susu bertujuan untuk memperoleh susu berkadar gizi tinggi, berkualitas tinggi, dan tahan simpan. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan mikroorganisme yang digunakan untuk membantu dalam proses fermentasi susu menjadi *yogurt*. Bakteri Asam Laktat memiliki sifat penting dalam kemampuannya merombak senyawa kompleks menjadi senyawa yang sederhana yang menghasilkan asam laktat, selain itu BAL dapat menurunkan nilai pH susu sehingga memperlambat pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan (Finarsih, 2014)

Yogurt memiliki manfaat yang sangat baik untuk kesehatan terutama saluran pencernaan. Pihlanto (2006), menyakan telah terbukti bahwa beberapa *lactobacillus* yang terkandung dalam *yogurt* memiliki aktivitas antioksidan dan mampu mengurangi resiko penumpukan ROS saluran pencernaan. Bakteri Asam Laktat yang terkandung di dalam *yogurt* mampu menurunkan anion superoksida dan hidrogen peroksida (Kullisaar *et al.*, 2002). Salah satu peptida yang telah diidentifikasi memiliki aktivitas antioksidan adalah *k-casein*. Peptida ini ditemukan pada *yogurt* yang difermentasi dengan *lactobacills delbrueckii ssp. bulgaricus* (Kudoh, Matsuda, Igoshi & Oki, 2001). Hal ini tentunya mampu memperbaiki kerusakan saluran cerna tikus yang terserang IBD.

Lactoferrin yang terkandung didalam yogurt memiliki aktifitas immunomodulator dan sebagai antiinflamasi. Lactoferrin mampu merangsang sistem imun spesifik maupun non-spesifik dengan cara mengatur respon imun bawaan sebagai pertahanan pertama dalam melawan patogen, inflamasi akut maupun kronis. Lactoferrin sebagai antiinflamasi bekerja dengan merangsang peningkatan maupun penurunan produksi sitokin diantaranya sitokin proinflamatori, TNF- α , IL-6 dan IL-1 β (Montoya *et al.*, 2012).

Baroja M.L, *et al.* (2007) membuktikan dalam penelitiannya bahwa probiotik yogurt memiliki efek anti-inflamasi pada penderita IBD yang ditunjukkan dengan menurunnya jumlah sel T reg, sitokin, monosit dan sel dendritik yang diuji sebelum dan setelah terapi. Manfaat yogurt sebagai anti-inflamasi juga dibuktikan oleh Mohamadshahi M, *et al.* (2014) yang menjelaskan bahwa yogurt menyebabkan penurunan HbA1c dan TNF- α yang signifikan pada pasien diabetes tipe 2. Tumor Necrotic Factor (TNF- α) merupakan sitokin inflamasi yang menjadi salah satu penanda keparahan tingkat inflamasi.