

**PENGARUH KORTIKOSTEROID DOSIS RENDAH TERHADAP  
DERAJAT INFLAMASI INTESTINAL MENCIT BALB/C  
MODEL SEPSIS PAPARAN LIPOPOLISAKARIDA**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**TIARA MAHARANI  
G 0005193**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
SURAKARTA  
2009**

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Sepsis adalah sindroma klinis yang dicetuskan oleh infeksi (Gatot, 2008). Sepsis dapat didefinisikan sebagai respon sistemik terhadap infeksi yang insidennya di dunia terus meningkat (Yildiz *et al.*, 2002). Di USA, terdapat sekitar 700.000 kasus sepsis per tahun dengan angka mortalitas mendekati 30% (Wesche-Soldato *et al.*, 2007). Angka mortalitas lebih tinggi pada pasien dengan *multiple organ failure* dan yang dirawat di *Intensive Care Unit* (ICU) (Yildiz *et al.*, 2002). Sedangkan di Indonesia, dari hasil penelitian yang dilakukan selama Januari 2006 sampai Desember 2007 di bagian *Pediatric Intensive Care Unit* (PICU)/ *Neonatal Intensive Care Unit* (NICU) Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Dr. Moewardi Surakarta, terdapat angka kejadian sepsis 33,5% dengan tingkat mortalitas sebesar 50,2% (Pudjiastuti, 2008).

Sepsis disebabkan oleh bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus, dan parasit (Amersfoort *et al.*, 2003; James *et al.*, 2005). Penyebab sepsis terbesar adalah bakteri gram negatif dengan persentase 60 sampai 70% kasus, yang menghasilkan berbagai produk yang dapat menstimulasi sel imun. Produk yang berperan penting terhadap sepsis ini adalah lipopolisakarida (LPS) yang merupakan komponen utama membran terluar dari bakteri gram negatif (Guntur, 2008b). LPS mengaktifkan respon inflamasi sistemik yang dapat menyebabkan suatu keadaan *Systemic*

*Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus dan organ lainnya, yang akhirnya mengakibatkan syok serta *multiple organ failure* (MOF) (Chinnaiyan, 2001).

Pada sepsis dapat terjadi hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya ke dalam sirkulasi sistemik sehingga akan mengakibatkan bertambahnya MOF dan secara signifikan akan memperburuk prognosis (Guntur, 2008b; Birnbaum *et al.*, 2006).

Pengobatan sepsis gram negatif didasarkan pada pemberian antimikroba yang adekuat dan *support* disfungsi organ (Cirioni *et al.*, 2006). Perkembangan dari pengobatan sepsis dalam mempengaruhi angka mortalitas dan morbiditas sangat sulit, dengan banyaknya obat anti-inflamasi dan anti-koagulan yang tidak menunjukkan adanya manfaat untuk bertahan pada percobaan yang dilakukan pada manusia (Wesche-Soldato *et al.*, 2007).

Kortikosteroid dapat mengurangi respon inflamasi yang berlebihan sehingga banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi (Huiqing *et al.*, 2007; Larosa, 2005). Pengobatan kortikosteroid pada pasien sepsis masih kontroversial. Pada tahun 1960-an, telah diteliti pengobatan kortikosteroid pada pasien sepsis tetapi hasilnya tidak memberikan manfaat. Sedangkan pada tahun 1970-an, kortikosteroid secara luas digunakan untuk pengobatan pasien sepsis dan syok septik (Yildiz *et al.*, 2002).

Penggunaan kortikosteroid dosis tinggi, setara dengan 30 mg/kg *methylprednisolone*, secara jangka pendek tidak memberikan manfaat pada pasien sepsis dan tidak memperlihatkan penurunan angka mortalitas yang bermakna (Larosa, 2005). Terdapat beberapa bukti yang menunjukkan bahwa pemakaian kortikosteroid dosis tinggi pada pasien sepsis dapat membahayakan (Yildiz *et al.*, 2002).

Sementara itu, kortikosteroid dosis rendah, setara dengan 40 mg/hari *methylprednisolone*, secara jangka panjang menurunkan angka mortalitas sepsis secara signifikan melalui pengaturan terhadap respon inflamasi sistemik dan mulai diterima secara luas sebagai pengobatan untuk pasien sepsis (Wesche-Soldato *et al.*, 2007; Goodman dan Charles, 2002; Knoben dan Anderson, 1988). Pemberian kortikosteroid dosis rendah tersebut tidak menyebabkan paralisis imun dan tidak mempengaruhi fungsi sistem imun alamiah sehingga lebih efektif (Guntur, 2008b; Larosa, 2005).

Berdasarkan permasalahan di atas, maka penulis akan meneliti pengaruh kortikosteroid dosis rendah terhadap derajat inflamasi intestinal pada mencit model sepsis yang dipaparkan dengan lipopolisakarida.

## **B. Perumusan Masalah**

Adakah pengaruh kortikosteroid dosis rendah terhadap derajat inflamasi intestinal Mencit Balb/C model sepsis paparan lipopolisakarida?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kortikosteroid dosis rendah terhadap derajat inflamasi intestinal Mencit Balb/C model sepsis paparan lipopolisakarida.

### **D. Manfaat Penelitian**

#### 1. Manfaat Teoritis :

Penelitian ini dapat membuktikan pengaruh pemberian kortikosteroid dosis rendah terhadap derajat inflamasi intestinal.

#### 2. Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan untuk penelitian lebih lanjut.

## BAB II

### LANDASAN TEORI

#### A. Tinjauan Pustaka

##### 1. Sepsis

Sepsis adalah sindroma klinis yang dicetuskan oleh infeksi (Gatot, 2008). Sepsis dapat didefinisikan sebagai respon sistemik terhadap infeksi (Yildiz *et al.*, 2002). Respon sistemik tersebut ditandai dengan dua atau lebih tanda: takipnea (frekuensi respirasi lebih dari 20 kali/menit); takikardia (frekuensi jantung lebih dari 100 kali/menit); hipertermia atau hipotermia (temperatur axilar tubuh lebih dari  $101^{\circ}\text{F}/38.3^{\circ}\text{C}$  atau kurang dari  $96.1^{\circ}\text{F}/35.6^{\circ}\text{C}$ ); leukositosis ( $>12.000\text{ sel/mm}^3$ ) atau leukopenia ( $<4000\text{ sel/mm}^3$ ) dengan atau tanpa ditemukannya bakteri dalam darah (Guntur, 2008a; Gatot, 2008).

Sepsis disebabkan oleh bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus, dan parasit (Amersfoort *et al.*, 2003; James *et al.*, 2005). Penyebab dari sepsis terbesar adalah bakteri gram negatif dengan persentase 60 sampai 70% kasus, yang menghasilkan berbagai produk dapat menstimulasi sel imun (Guntur, 2008b). Produk yang berperan penting terhadap sepsis adalah lipopolisakarida (LPS), komponen utama membran terluar dari bakteri gram negatif, yang dinyatakan sebagai penyebab sepsis terbanyak. LPS merangsang peradangan jaringan, demam, dan syok pada penderita yang terinfeksi. Struktur lipid A dalam LPS

bertanggungjawab terhadap reaksi dalam penderita (Guntur, 2008b; Gatot, 2008).

Patofisiologi sepsis sangat kompleks akibat dari interaksi antara proses infeksi kuman patogen, inflamasi dan jalur koagulasi (Jessen *et al.*, 2007; Russel, 2006) yang dikarakteristikan sebagai ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi seperti *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *interleukin-1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ), *interleukin-6* (IL-6) dan *Interferon- $\gamma$*  (IFN $\gamma$ ) dengan anti-inflamasi (*interleukin-1* reseptor antagonis (IL-1ra), *interleukin-4* (IL-4) dan *interleukin-10* (IL-10)) endogen (Gonzales-Rey *et al.*, 2006). Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan aktivasi respon sistemik berupa SIRS terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus dan organ lainnya yang mempengaruhi permeabilitas vaskuler, fungsi jantung dan menginduksi perubahan metabolik menyebabkan apoptosis maupun nekrosis jaringan, MOF serta kematian (Gonzales-Rey *et al.*, 2006; Corral *et al.*, 2005; Chinnaiyan, 2001). Peran sitokin proinflamasi yang disertai adanya proses apoptosis mempunyai peranan penting dalam menentukan derajat kerusakan jaringan dan kegagalan fungsi organ, serta cepat lambatnya terjadinya syok septik (Gatot, 2008).

Apoptosis adalah mekanisme utama kematian sel pada sepsis yang terjadi terutama pada limfosit dan sel epitel gastrointestinal, secara normal kedua sel tersebut mengalami pergantian selama apoptosis (Irene, 2007). Sejumlah penelitian menyatakan bahwa disregulasi apoptosis terhadap kematian sel-sel imun berperan penting dalam menimbulkan disfungsi

imun serta MOF selama sepsis (Ayala *et al.*, 2007). Apoptosis yang meningkat merupakan salah satu mekanisme yang mendukung perusakan mukosa saluran cerna yang diinduksi endotoksin. Peningkatan apoptosis saluran pencernaan yang sering terjadi pada sepsis dan kematian sel mukosa yang berlebihan akan mendukung adanya atrofi, perusakan, dan gangguan fungsi pertahanan mukosa saluran pencernaan (Alscher *et al.*, 2001).

Imunitas intestinal dipengaruhi oleh dua faktor yaitu organisme patogenik yang hidup bersamaan dengan organisme komensal di usus (Diding dan Guntur, 2008). Sel epitel intestinal yang berada pada vili usus merupakan *barrier* paling penting untuk pertahanan dari patogen dan sebagai sensor terhadap lingkungan lumen usus (Guntur, 2008b; Kaneko *et al.*, 2005). Sel epitel tersebut dapat melepaskan sitokin inflamasi sebagai respon terhadap invasi bakteri patogen (Diding dan Guntur, 2008). Pada sepsis dapat terjadi hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya kedalam sirkulasi sistemik sehingga akan mengakibatkan bertambahnya MOF dan secara signifikan akan memperburuk prognosis (Guntur, 2008b; Birnbaum *et al.*, 2006).

Penatalaksanaan sepsis pada umumnya terdiri dari mempertahankan hemodinamik tetap normal; meningkatkan daya pertahanan tubuh; pemberian antibiotika dan pengobatan terhadap



penyakit dasarnya (*underlying disease*); eliminasi pusat infeksi dan sumber infeksi; imunonutrisi; dan pengobatan tambahan, seperti kortikosteroid (Guntur, 2008a; Gatot 2008).

Pengobatan sepsis gram negatif didasarkan pada pemberian antimikroba yang adekuat dan *support* disfungsi organ (Cirioni *et al.*, 2006). Perkembangan dari pengobatan sepsis dalam mempengaruhi angka mortalitas dan morbiditas sangat sulit, dengan banyaknya obat anti-inflamasi dan anti-koagulan yang tidak menunjukkan adanya manfaat untuk bertahan pada percobaan yang dilakukan pada manusia (Wesche-Soldato *et al.*, 2007).

Sementara itu, kortikosteroid dosis rendah jangka panjang, telah terbukti menurunkan angka mortalitas secara signifikan melalui pengaturan terhadap respon inflamasi sistemik dan mulai diterima secara luas sebagai pengobatan untuk pasien sepsis (Wesche-Soldato *et al.*, 2007; Larosa, 2005; Goodman dan Charles, 2002).

## **2. Kortikosteroid Dosis Rendah**

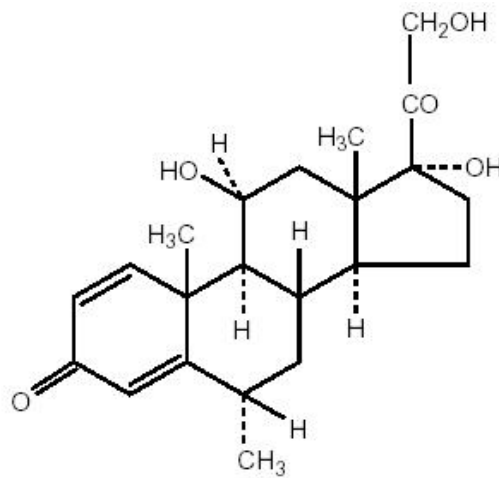
Kortikosteroid dapat mengurangi respon inflamasi yang berlebihan sehingga banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi (Larosa, 2005; Huiqing *et al.*, 2007). Kortikosteroid melalui beberapa mekanisme dalam mengurangi respon inflamasi yang berlebihan pada sepsis tersebut, di antaranya menurunkan produksi sitokin inflamasi; menghambat aktivasi *complement* dan agregasi netrofil; menghambat pelepasan enzim toksik,

seperti *lysozyme* dan *superoxide*, dari netrofil; dan memperbaiki fungsi hemodinamik agar hemodinamik tetap stabil (Guntur, 2008a; Larosa, 2005).

Pengobatan kortikosteroid pada pasien sepsis masih kontroversial. Pada tahun 1960-an, telah diteliti pengobatan kortikosteroid pada pasien sepsis tetapi hasilnya tidak memberikan manfaat. Sedangkan pada tahun 1970-an, kortikosteroid secara luas digunakan untuk pengobatan pasien sepsis dan syok septik (Yildiz *et al.*, 2002).

Penggunaan kortikosteroid dosis tinggi, setara dengan 30 mg/kg *methylprednisolone*, secara jangka pendek tidak memberikan manfaat pada pasien sepsis dan tidak memperlihatkan penurunan angka mortalitas yang bermakna (Larosa, 2005). Terdapat beberapa bukti yang menunjukkan bahwa pemakaian kortikosteroid dosis tinggi pada pasien sepsis dapat membahayakan (Yildiz *et al.*, 2002).

Sedangkan pada dosis rendah, setara dengan 40 mg/hari *methylprednisolone*, secara jangka panjang, kortikosteroid dapat menurunkan angka mortalitas sepsis (Larosa, 2005; Goodman dan Charles, 2002; Knoblen dan Anderson, 1988). Kortikosteroid dosis rendah menekan atau mengurangi efek sitokin, terutama sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi sehingga dapat menghambat terjadinya proses inflamasi (Guntur, 2008b; Huiqing *et al.*, 2007). Pemberian kortikosteroid dosis rendah tersebut tidak menyebabkan paralisis imun dan tidak mempengaruhi fungsi sistem imun alamiah sehingga lebih efektif (Guntur, 2008b; Larosa, 2005).



**Gambar 2.1.** Rumus bangun *methylprednisolone*

### 3. Histologi Usus Halus

Dinding usus halus secara umum terdiri dari 4 lapisan utama dari dalam keluar yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna dan serosa.

#### a. Mukosa usus

Mukosa usus halus secara umum terdiri atas 3 lapisan yaitu:

##### 1) Epitel kolumner simpleks

Meliputi villi dan permukaan ruang interviller tersusun atas sel absorpsi superfisial, sel goblet, sel *Diffuse Neuroendocrine System* ( sel DNES), dan sel mikrofold (sel M).

- a) Sel absorpsi superfisial: sel kolumner simpleks yang berfungsi dalam proses pencernaan serta absorpsi air dan nutrisi.
- b) Sel goblet: kelenjar uniseluler yang memproduksi *mucinogen*, dalam bentuk hidrat menjadi *mucin* merupakan komponen mukus yang berfungsi sebagai garis lapisan pertahanan lumen usus.

- c) Sel *Diffuse Neuroendocrine System* (DNES): memproduksi hormon parakrin dan endokrin.
- d) Sel mikrofold (sel M): memfagosit dan membawa antigen dari lumen usus ke dalam lamina propria mukosa usus.

## 2) Lamina propria

Merupakan jaringan pengikat yang mengandung banyak pembuluh darah dan sejumlah kelenjar intestinal tubuler atau kriptelieberkuhn, selain itu mengandung banyak nodul limfoid untuk melindungi usus dari invasi mikroorganisme.

## 3) Muskularis mukosa

Merupakan sel otot polos yang terdiri atas lapisan sirkuler internal dan lapisan longitudinal eksternal. Selama proses pencernaan, muskularis mukosa berkontaksi secara ritmis.

### b. Submukosa

Submukosa usus halus terdiri atas jaringan pengikat fibroelastik tidak teratur mengandung banyak pembuluh darah dan pembuluh limfe. Terdapat persarafan parasimpatis yaitu pleksus meissner.

### c. Muskularis eksterna

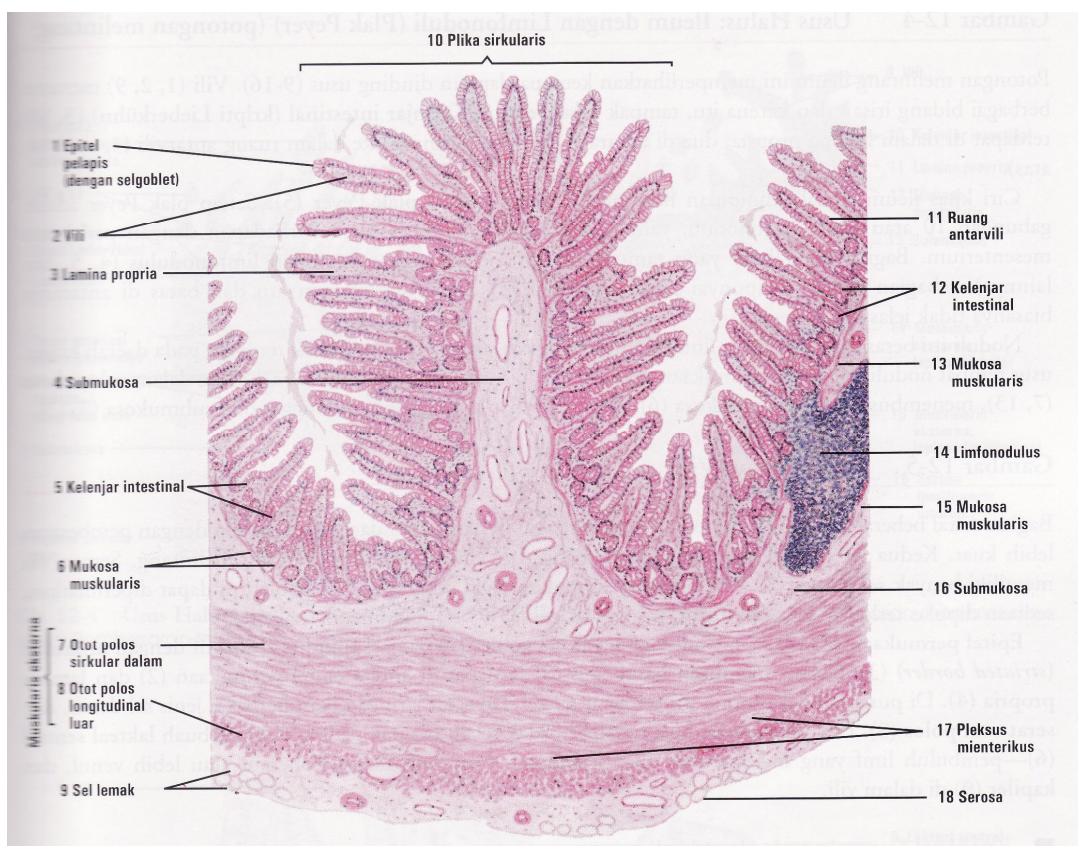
Muskularis eksterna pada usus halus terdiri atas lapisan sirkuler internal dan lapisan otot longitudinal eksternal berfungsi sebagai aktivitas peristaltik usus halus. Terdapat sistem persarafan parasimpatis yaitu pleksus auerbach.

d. Serosa

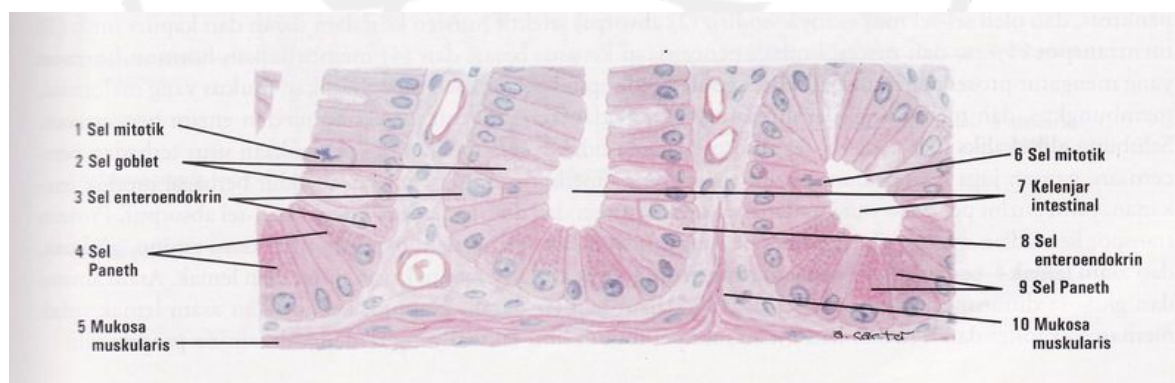
Merupakan lapisan terluar dinding usus yang terdiri jaringan pengikat longgar.

(Gartner dan Hiatt, 2007; Junqueira dan Carneiro, 2005)





**Gambar 2.2.** Usus Halus: Jejunum-Ileum (potongan melintang). Pulasan: hematoksilin-eosin.



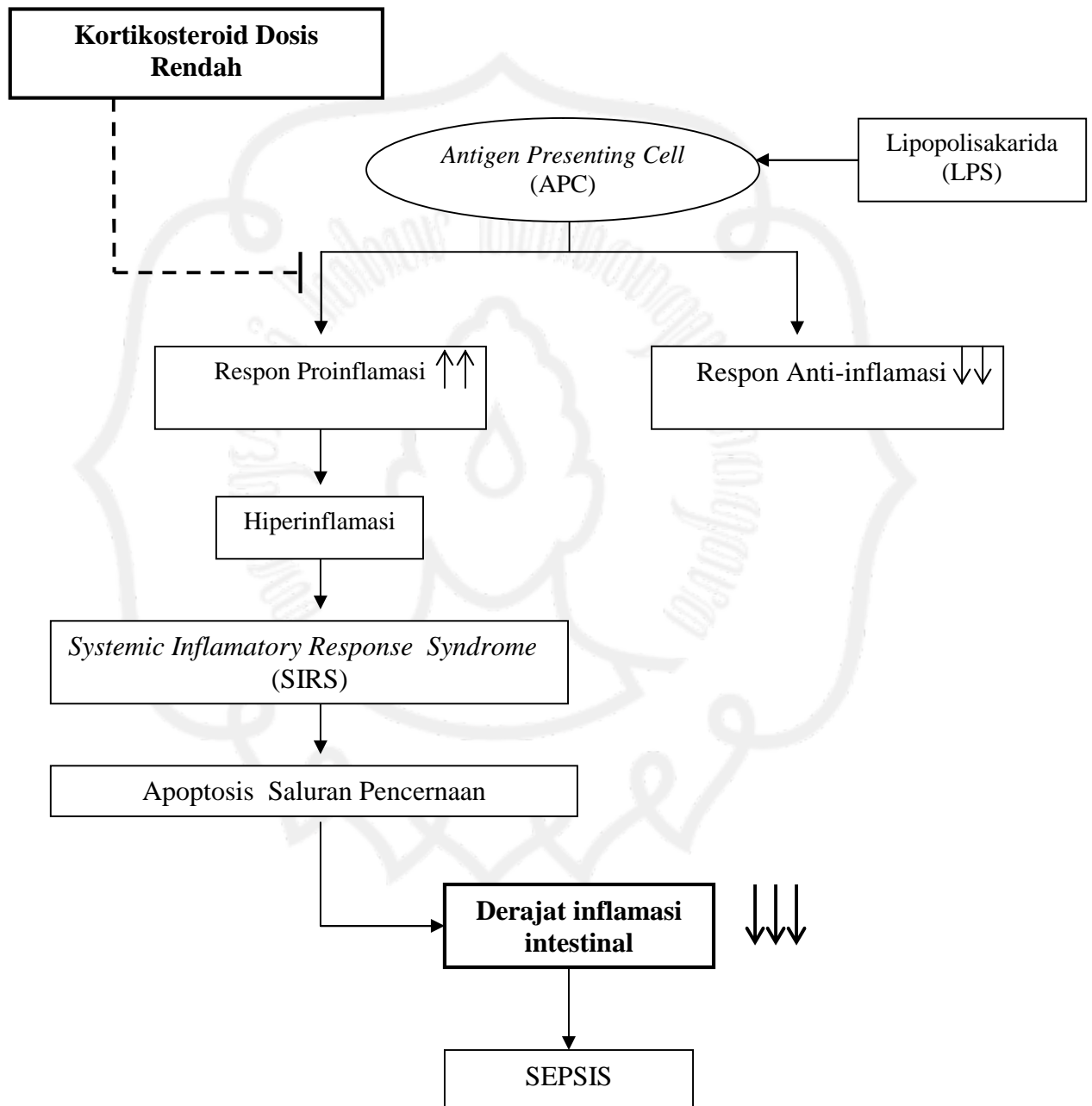
**Gambar 2.3.** Kelenjar intestinal dengan Sel Paneth dan Sel Enteroendokrin. Pulasan: hematoksilin-eosin, potongan plastik.

(Victor, 2003)



## B. Kerangka Pemikiran

### 1. Kerangka Berpikir Konseptual



Keterangan :

→ : Merangsang  
- - - - - | : Menghambat

### 3. Kerangka Berpikir Teoritis

Sepsis adalah sindroma klinis yang dicetuskan oleh infeksi (Gatot, 2008). Sepsis dapat didefinisikan sebagai respon sistemik terhadap infeksi (Yildiz *et al.*, 2002).

Masuknya mikroorganisme penginfeksi ke dalam tubuh akan menyebabkan aktivasi sel APC (*Antigen Presenting Cell*) yang akan mengeluarkan sitokin-sitokin seperti IL-15, IL-12 dan dengan IL-2 (Abbas dan Litchman, 2005). Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan aktivasi respon sistemik berupa SIRS terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus dan organ lainnya yang mempengaruhi permeabilitas vaskuler, fungsi jantung dan menginduksi perubahan metabolik menyebabkan apoptosis maupun nekrosis jaringan, MOF serta kematian (Gonzales-Rey *et al.*, 2006; Corral *et al.*, 2005; Chinnaiyan, 2001). Apoptosis merupakan mekanisme utama kematian sel pada sepsis yang terjadi terutama pada limfosit dan sel epitel gastrointestinal, secara normal kedua sel tersebut mengalami pergantian selama apoptosis (Irene, 2007).

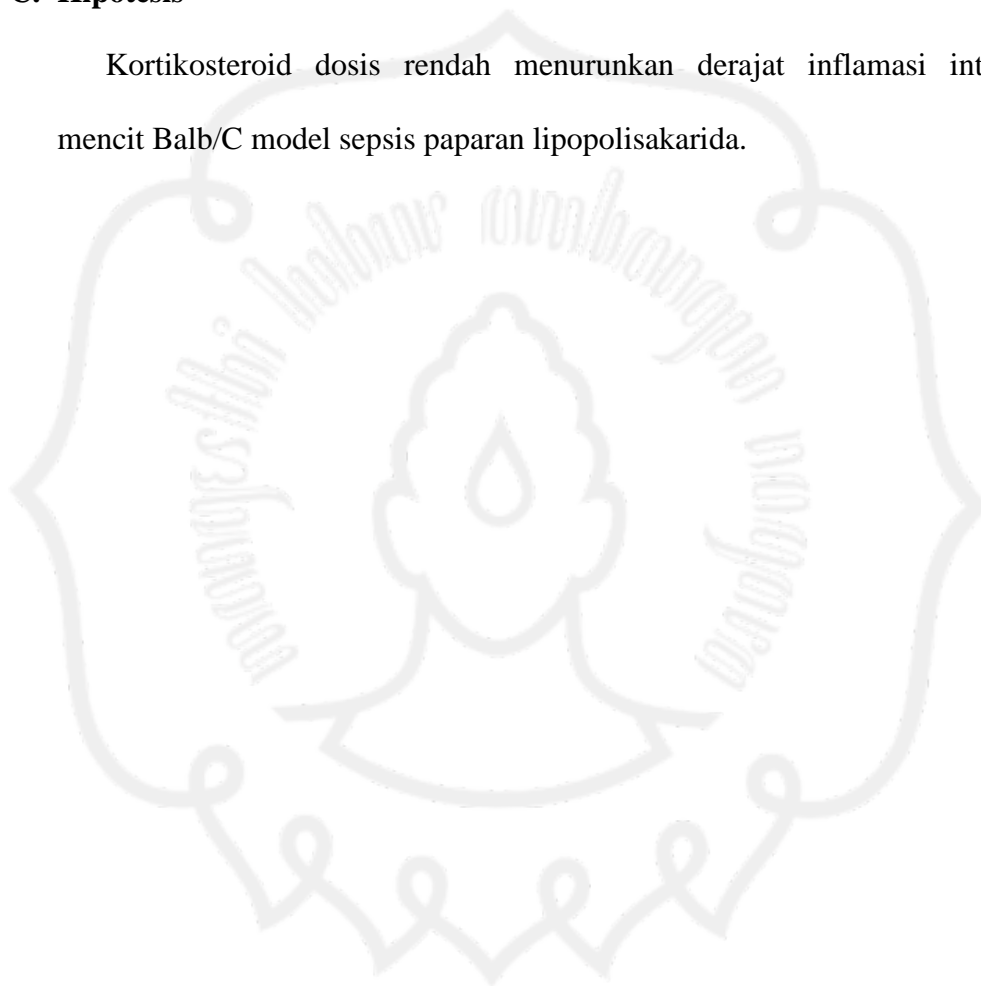
Pada sepsis terjadi hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya kedalam sirkulasi sistemik (Birnbaum *et al.*, 2006).



Kortikosteroid dosis rendah menekan atau mengurangi efek sitokin, terutama sitokin pro-inflamasi dengan anti-inflamasi sehingga dapat menghambat terjadinya proses inflamasi (Guntur, 2008; Huiqing *et al.*, 2007).

### **C. Hipotesis**

Kortikosteroid dosis rendah menurunkan derajat inflamasi intestinal mencit Balb/C model sepsis paparan lipopolisakarida.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*.

#### **B. Lokasi penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

#### **C. Subjek Penelitian**

Subjek penelitian berupa 54 ekor mencit Balb/C jantan, dengan berat kurang lebih 20-35 gram dan berumur 4-6 minggu. Mencit Balb/C diperoleh dari Universitas Setia Budi, Surakarta. Bahan makanan mencit digunakan pakan mencit BR I.

#### **D. Teknik Sampling**

Untuk pengambilan sampel digunakan teknik *incidental sampling*. Pencuplikan seenaknya atau sekenanya (= *convenience sampling*, *haphazard sampling*, *grab sampling*, *incidental sampling*) merupakan metode pencuplikan non-random yang mencuplik subjek dari populasi sasaran dengan cara insidental atau “mencomot” (= *grab*) begitu saja subjek penelitian (Murti, 2006).

Untuk menentukan jumlah sampel penelitian, dipakai rumus

*Federer*, yaitu:

$$(k-1)(n-1) \geq 15$$

$$(9-1)(n-1) \geq 15$$

$$8(n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15/8$$

$$n \geq 2,875$$

dibulatkan menjadi  $n = 3$

Keterangan:

k: jumlah kelompok penelitian

n: jumlah sampel penelitian tiap kelompok  
(Purawisastra, 2001)

Peneliti menggunakan sampel sebanyak masing-masing 6 ekor mencit untuk setiap kelompok .

#### **E. Variabel Penelitian**

1. Variabel Bebas : kortikosteroid dosis rendah
2. Variabel Terikat : derajat inflamasi intestinal
3. Variabel Perancu
  - a. Dapat dikendalikan
    - 1) Genetik
    - 2) Berat badan
    - 3) Makanan
    - 4) Umur

b. Tidak dapat dikendalikan

1) Variasi kepekaan mencit terhadap suatu zat

#### **F. Skala Variabel**

1. Pemberian kortikosteroid dosis rendah : skala nominal
2. Derajat inflamasi intestinal : skala ordinal

#### **G. Definisi Operasional**

1. Pembuatan Sepsis pada Mencit

Untuk membuat mencit sepsis maka diinjeksi secara *intraperitoneal* dengan LPS dosis kecil yaitu 0,1 mg/mencit (Wang *et al.*, 2006).

2. Pemberian Kortikosteroid Dosis Rendah

Kortikosteroid dosis rendah yang digunakan adalah *methylprednisolone* dengan dosis 0,05 mg/mencit dua kali sehari secara *intraperitoneal*.

3. Derajat Inflamasi Intestinal Mencit

Derajat inflamasi intestinal ditentukan dengan adanya infiltrasi sel-sel radang ( netrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit ) ke dalam lapisan usus yang dinyatakan dalam grading inflamasi.

Grading inflamasi pada usus berdasar atas infiltrasi sel radang yang dibagi menjadi 5, yaitu :

Grade 0 : tidak ada infiltrasi sel radang ( jaringan normal )

Grade 1 : infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel dari mukosa usus

Grade 2 : infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel dari mukosa usus dan sedikit infiltrasi ke lapisan submukosa

Grade 3 : infiltrasi sel radang sampai ke lapisan submukosa

Grade 4 : infiltrasi sel radang sampai ke lapisan muskularis / transmural

( Chang dan Miller, 2006 )

Sel-sel radang yang dilihat antara lain :

a. Neutrofil

Leukosit yang bergranul, mempunyai inti berlobus. Pada pewarnaan wright, sitoplasma mengandung granul halus berwarna ungu atau merah muda yang sukar dilihat dengan mikroskop cahaya biasa. Inti sel terdiri atas beberapa lobus yang dihubungkan oleh benang kromatin halus. Sel pertahanan pertama pada invasi bakteri dan sangat penting dalam respon peradangan dan pembersihan debris (Lauralee, 2001). Terdapat 60-70% dari leukosit darah.

b. Eosinofil

Pada pewarnaan wright, sitoplasma dipenuhi granul eosinofilik (merah muda terang) besar. Inti sel khas dua lobus (bilobar). Peningkatan eosinofil dikaitkan dengan keadaan alergi dan infeksi parasit. Terdapat 2-4% dari leukosit darah.

c. Basofil

Pada pewarnaan wright terlihat berwarna biru tua, sitoplasma terdapat granul padat, inti tidak berlobi banyak dan terpusas basofilik pucat. Terdapat kurang dari 1% dari leukosit darah.

d. Monosit

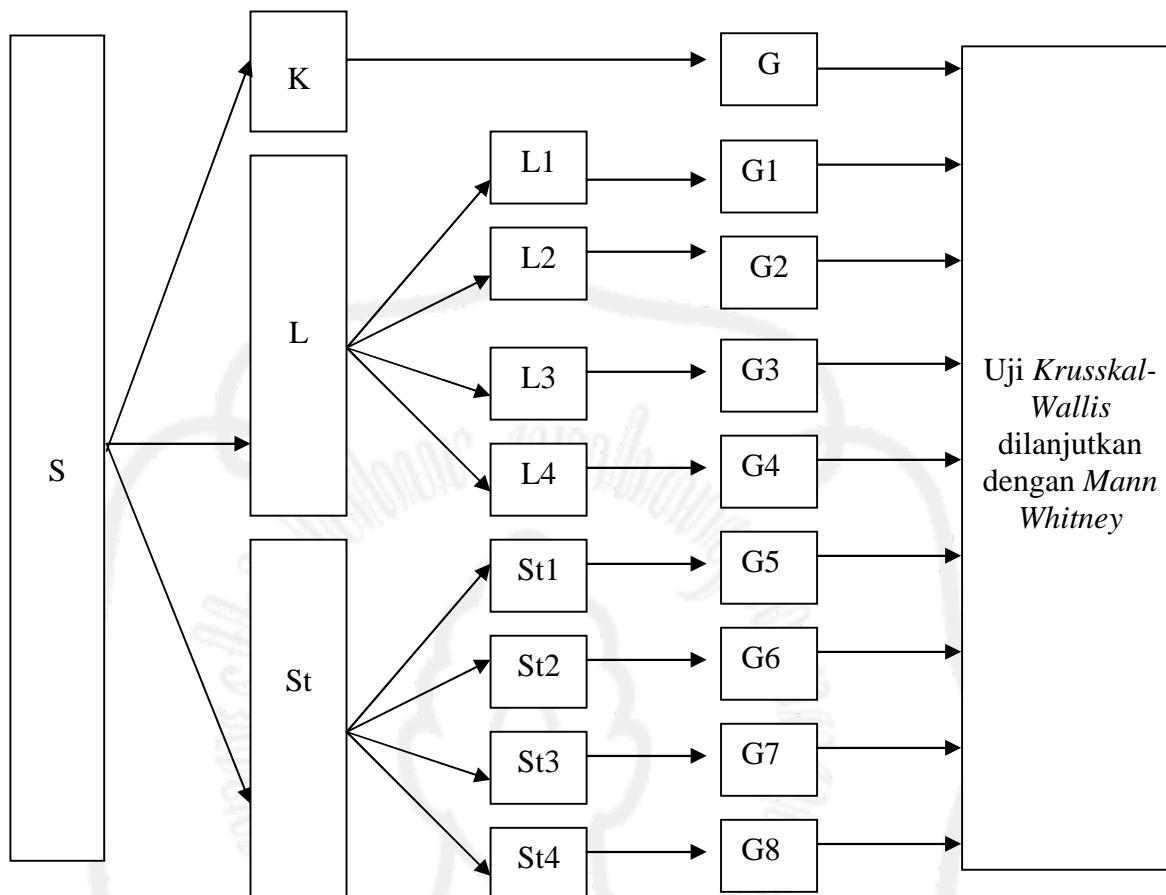
Merupakan leukosit paling besar. Pada pewarnaan wright inti bervariasi, dari bulat sampai lonjong, berbentuk tapal kuda. Sitoplasma banyak, sedikit basofilik dan mengandung sedikit granul azurofilik halus. Monosit terus berkembang dan membesar menjadi fagosit jaringan besar sebagai makrofag. Mencakup 3-8% leukosit darah.

e. Limfosit

Pada pewarnaan wright tidak memiliki granul sitoplasma. Inti bulat sampai berbentuk tapal kuda. Menghasilkan pertahanan imun, terdapat dua jenis limfosit, limfosit B dan limfosit T. Mencakup sekitar 20-30% leukosit darah.

(Victor, 2003)

## H. Rancangan Penelitian



**Gambar 3.1.** Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S: Jumlah mencit yang digunakan
- K: Kelompok kontrol negatif
- L: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal*
- L1: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*Intraperitoneal*, dikorbankan pada hari ke-1
- L2: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal*, dikorbankan pada hari ke-3
- L3: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal*, dikorbankan pada hari ke-5
- L4: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal*, dikorbankan pada hari ke-7

- St: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal* dan kortikosteroid dosis rendah 0,05mg/mencit/*intraperitoneal*
- St1: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal* dan kortikosteroid dosis rendah 0,05mg/mencit/*intraperitoneal* pada hari ke-0, dikorbankan pada hari ke-1
- St2: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal* dan kortikosteroid dosis rendah 0,05 mg/mencit/*intraperitoneal* 2x sehari pada hari ke 0-2, dikorbankan pada hari ke-3
- St3: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal* dan kortikosteroid dosis rendah 0,05 mg/mencit/*intraperitoneal* 2x sehari pada hari ke 0-4, dikorbankan pada hari ke-5
- St4: Kelompok perlakuan dengan pemberian LPS 0,1 mg/mencit/*intraperitoneal* dan kortikosteroid dosis rendah 0,05 mg/mencit/*intraperitoneal* 2x sehari pada hari ke 0-6, dikorbankan pada hari ke-7
- G : Grading inflamasi kelompok kontrol
- G1: Grading inflamasi kelompok L1
- G2: Grading inflamasi kelompok L2
- G3: Grading inflamasi kelompok L3
- G4: Grading inflamasi kelompok L4
- G5: Grading inflamasi kelompok St1
- G6: Grading inflamasi kelompok St2
- G7: Grading inflamasi kelompok St3
- G8: Grading inflamasi kelompok St4

## I. Instrumentasi Penelitian

### 1. Alat penelitian

- a. kandang hewan percobaan (30x38x15 cm<sup>3</sup>)
- b. timbangan hewan *Camry*
- c. timbangan listrik *Mettler Toledo*
- d. spuit injeksi 1cc
- e. pipet ukur 1ml
- f. labu takar 5ml
- g. *beaker glass* 5ml



- h. mikroskop cahaya *Olympus*
  - i. alat-alat pembuatan preparat histologis, antara lain gelas objek
  - j. alat bedah minor
2. Bahan penelitian
- a. Bahan Perlakuan : Kortikosteroid (*methylprednisolone*) dosis rendah, Aqua bides, Lipopolisakarida (LPS), *Phosphate-Buffered Saline* (PBS), Aquades, Hewan uji (54 ekor Mencit Balb/C), Makanan hewan uji (pellet), dan minuman hewan uji (air pam).
  - b. Bahan Pembuatan Preparat : Organ usus halus mencit setelah perlakuan dan kontrol, formalin 10%, alkohol bertingkat (60%, 70%, 80% dan 96%), toluol, xylol, parafin, pewarna Hematoksin dan Eosin, Aquades.

## J. Penentuan Dosis

### 1. Lipopolisakarida (LPS)

LPS (*E. coli*) dari Sigma Aldrich sebanyak 10 mg dilarutkan ke dalam 10 ml *Phosphate-Buffered Saline* (PBS). Untuk uji sistem imunitas mukosa dilakukan inokulasi secara *intraperitoneal* dengan LPS dosis 0,1 mg/mencit (Wang *et al.*, 2006) sehingga dosis yang diinjeksikan per mencit yaitu 0,1 ml.

### 2. Kortikosteroid dosis rendah

Dosis rendah *Methylprednisolone* per hari pada manusia sebesar 40 mg (Knoben dan Anderson, 1988).

Dosis obat pada mencit 0,0026 kali dosis pada manusia (Suhardjono, 1995).

Dosis rendah *Methylprednisolone* pada mencit =  $0,0026 \times 40 \text{ mg}$   
= 0,10 mg/mencit

*Methylprednisolone* sebanyak 125 mg dilarutkan ke dalam 125 ml aqua bides sehingga dosis yang diinjeksikan per Mencit Balb/c yaitu 0,05 ml/i.p dua kali sehari.

#### K. Cara Kerja

1. Sebelum perlakuan
  - a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi laboratorium tempat penelitian dilakukan selama kurang lebih 1 minggu.
  - b. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 9 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor Mencit Balb/C.

2. Pemberian perlakuan

Sejak hari ke-0 sampai dengan hari ke-7, diberi diet standar seluruh kelompok.

Pada hari ke-0 kelompok St1, L1, St2, L2, St3, L3, St4, L4 diinjeksikan LPS 0,1 ml/*intraperitonal*.

Pada hari ke-0 kelompok St1 diinjeksikan kortikosteroid dengan dosis 0,05 ml/*intraperitonal*.

Pada hari ke-0 sampai ke-2 kelompok St2 diinjeksikan kortikosteroid dengan dosis 0,05 ml/*intraperitonal* dua kali sehari.

Pada hari ke-0 sampai ke-4 kelompok St3 diinjeksikan kortikosteroid dengan dosis 0,05 ml/*intraperitonal* dua kali sehari.

Pada hari ke-0 sampai ke-6 kelompok St4 diinjeksikan kortikosteroid dengan dosis 0,05 ml/*intraperitonal* dua kali sehari.

Pada hari ke-1 semua mencit dari kelompok St1 dan L1 dikorbankan dan diambil intestinalnya.

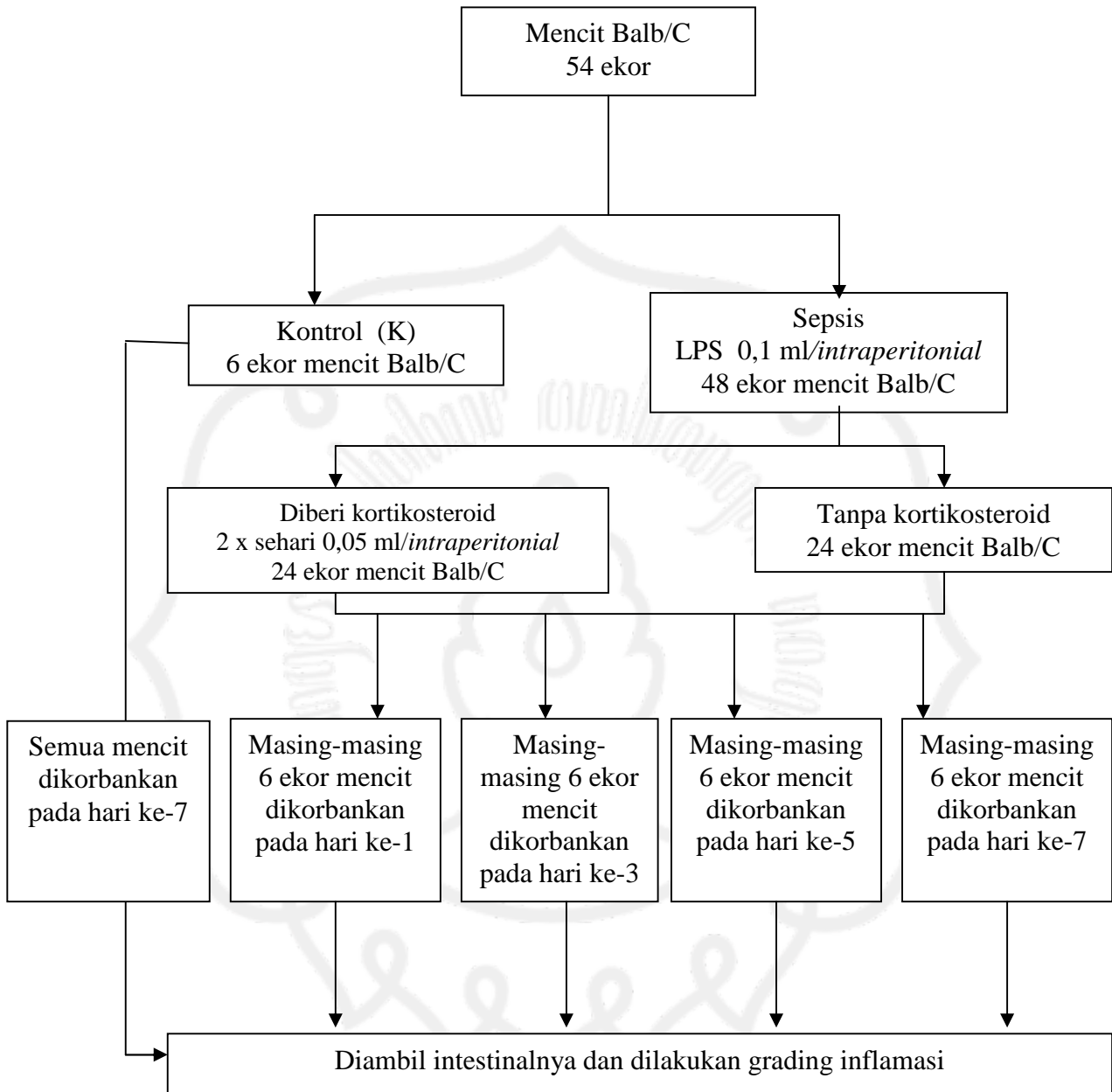
Pada hari ke-3 semua mencit dari kelompok St2 dan L2 dikorbankan dan diambil intestinalnya.

Pada hari ke-5 semua mencit dari kelompok St3 dan L3 dikorbankan dan diambil intestinalnya.

Pada hari ke-7 semua mencit dari kelompok K, St4 dan L4 dikorbankan dan diambil intestinalnya.

### 3. Setelah perlakuan

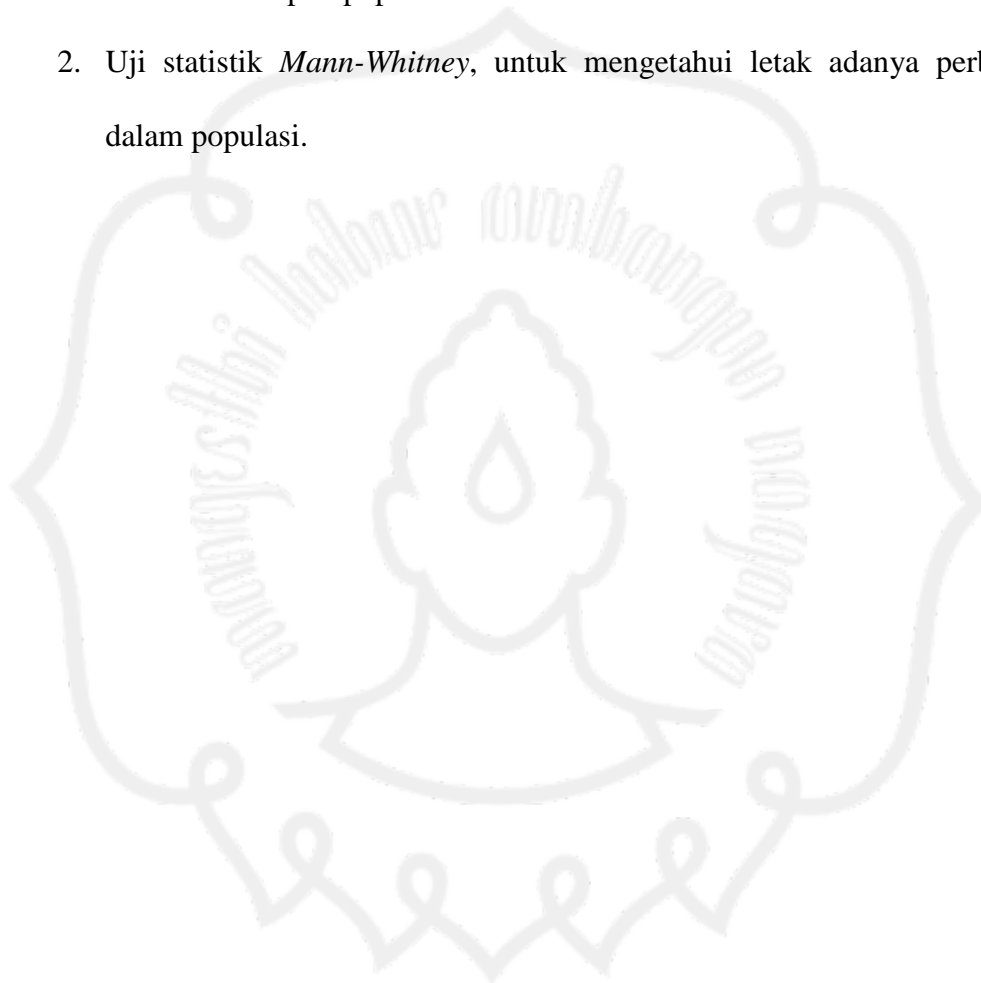
Mencit yang dikorbankan lalu diambil intestinalnya, kemudian dibuat preparat dengan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE). Setelah itu dilihat gambaran histologisnya dan ditentukan derajat inflamasinya.

**L. Alur Kerja**

### M. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney*.

1. Uji statistik *Kruskal-Wallis*, untuk mengetahui adanya perbedaan dalam seluruh kelompok populasi.
2. Uji statistik *Mann-Whitney*, untuk mengetahui letak adanya perbedaan dalam populasi.

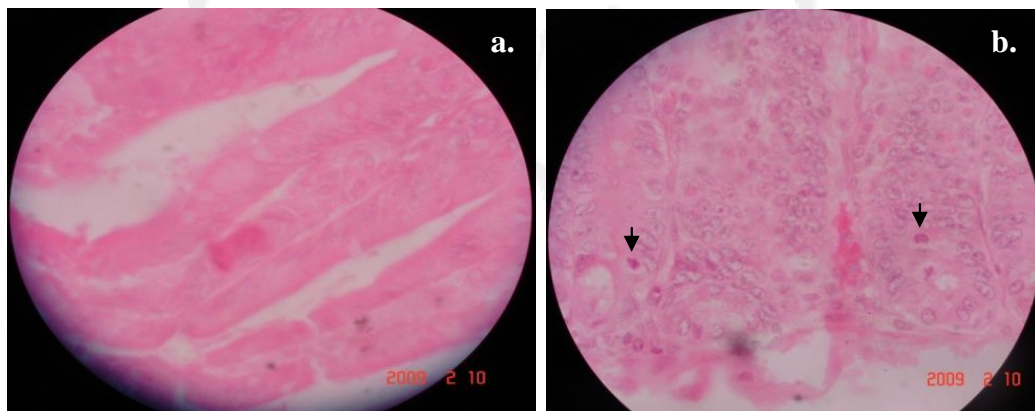


## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

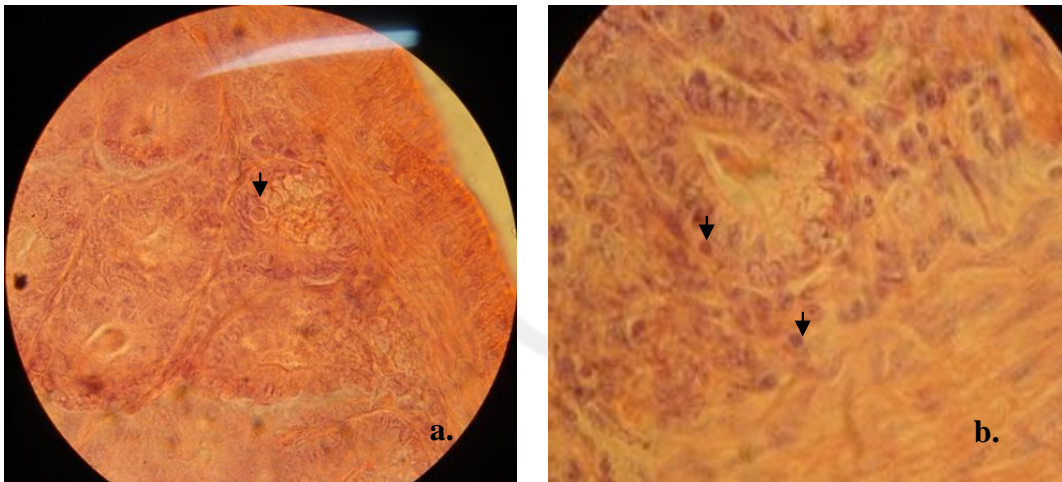
#### Kinetik Pengaruh Kortikosteroid Dosis Rendah terhadap Derajat Inflamasi Intestinal.

Pada penelitian ini kelompok kontrol menunjukkan inflamasi intestinal pada derajat 0 s/d 1 (gambar 4.1).



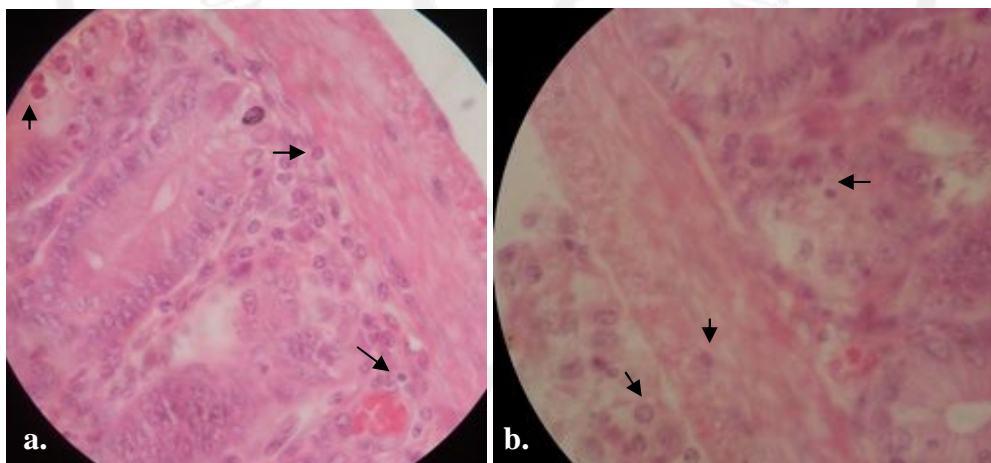
**Gambar 4.1.** Gambaran Inflamasi pada intestinal mencit Balb/C kelompok kontrol menggunakan pengecatan HE, dengan pembesaran 1000x. Sel radang ditunjukkan dengan anak panah.  
a. Grade 0.  
b. Grade 1.

Pemaparan LPS mampu meningkatkan inflamasi intestinal mencit dari derajat 2 s/d 4 (gambar 4.2). Pada hari pertama sudah terlihat peningkatan derajat inflamasi yang berbeda secara bermakna ( $p = 0.002$ ) dibandingkan kelompok mencit kontrol (tabel 4.2) dan inflamasi intestinal mencapai puncaknya pada hari ketujuh (tabel 4.1).



**Gambar 4.2.** Gambaran Inflamasi pada intestinal mencit Balb/C kelompok Sepsis hari ke-1 menggunakan pengecatan HE, dengan pembesaran 1000x. Sel radang ditunjukkan dengan anak panah.  
a. Grade 2.  
b. Grade 3.

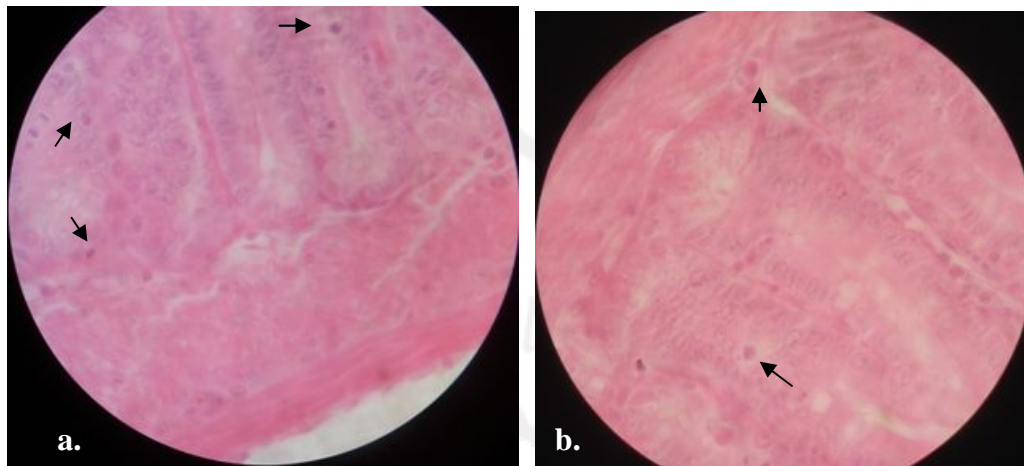
Pada hari ketujuh, kelompok LPS terlihat 66,7% berada pada inflamasi derajat 4 (gambar 4.3).



**Gambar 4.3.** Gambaran Inflamasi pada intestinal mencit Balb/C kelompok Sepsis hari ketujuh menggunakan pengecatan HE, dengan pembesaran 1000x. Sel radang ditunjukkan dengan anak panah.  
a. Grade 3.  
b. Grade 4.



Pemberian kortikosteroid dosis rendah pada mencit model sepsis, pada hari pertama 66,7% memperlihatkan derajat inflamasi intestinal pada derajat 3 (gambar 4.4).



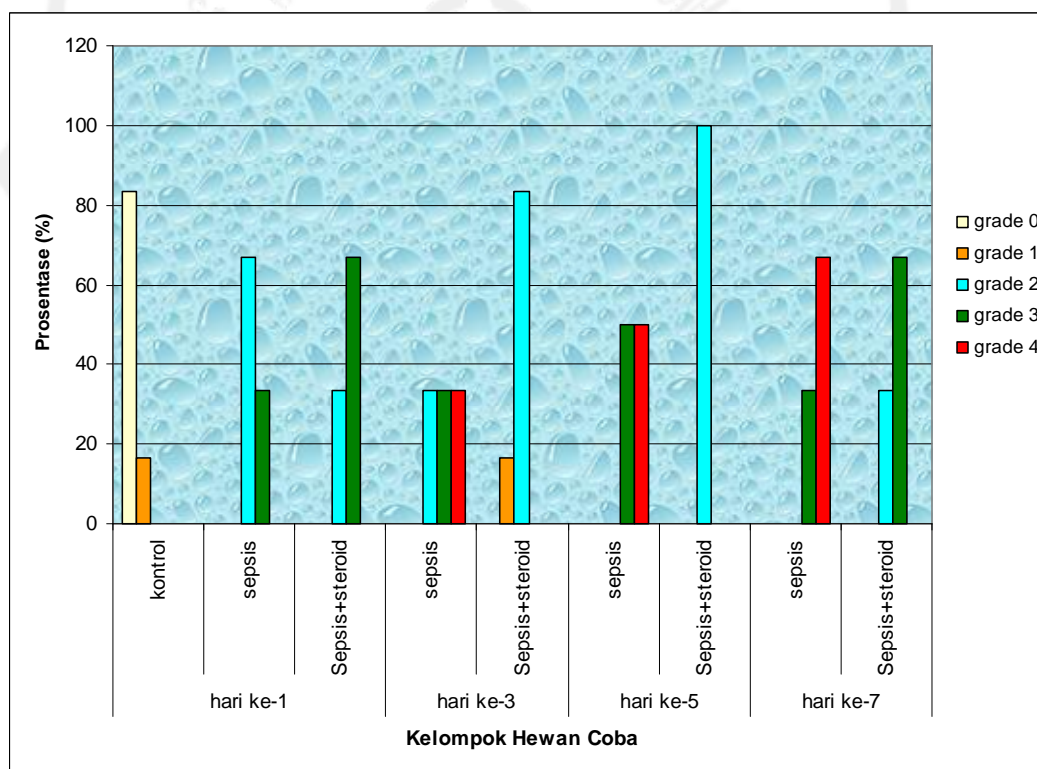
**Gambar 4.4.** Gambaran Inflamasi pada intestinal mencit Balb/C kelompok Steroid dosis rendah hari pertama menggunakan pengecatan HE, dengan pembesaran 1000x. Sel radang ditunjukkan dengan anak panah.  
a. Grade 2.  
b. Grade 3.

Hasil ini berbeda dengan kelompok sepsis pada hari yang sama menunjukkan 66,7% inflamasi intestinal diantaranya berada pada derajat 2 (tabel 4.1), meskipun secara statistik tidak berbeda bermakna ( $p = 0.269$ ) (tabel 4.2). Perbedaan derajat inflamasi intestinal mencit pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 4.1 dan gambar 4.5.



**Tabel 4.1.** Efek kortikosteroid dosis rendah terhadap derajat inflamasi intestinal yang diukur hari ke-1, -3, -5, dan -7 pada mencit Balb/C model sepsis.

Kelompok Hewan coba	Derajat Inflamasi Intestinal				
	0 Jumlah (%)	1 Jumlah (%)	2 Jumlah (%)	3 Jumlah (%)	4 Jumlah (%)
Kontrol (n=6)	5 (83.3)	1 (16.7)	-	-	-
Sepsis (n=6)					
hari ke-1	-	-	4 (66.7)	2 (33.3)	-
hari ke-3	-	-	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)
hari ke-5	-	-	-	3 (50.0)	3 (50.0)
hari ke-7	-	-	-	2 (33.3)	4 (66.7)
Sepsis + Kortikosteroid dosis rendah (n=6)					
hari ke-1	-	-	2 (33.3)	4 (66.7)	-
hari ke-3	-	1 (16.7)	5 (83.3)	-	-
hari ke-5	-	-	6 (100)	-	-
hari ke-7	-	-	2 (33.3)	4 (66.7)	-



**Gambar 4.5.** Persentase efek kortikosteroid dosis rendah terhadap derajat inflamasi intestinal yang diukur hari ke-1, -3, -5, dan -7 pada mencit Balb/C model sepsis.

Pemberian kortikosteroid dosis rendah mulai memperlihatkan perbaikan derajat inflamasi intestinal pada hari ketiga. Hasil penelitian ini memperlihatkan perbedaan yang bermakna dibandingkan kelompok sepsis tanpa kortikosteroid, yaitu masing-masing hari ke-3 ( $p = 0.020$ ), hari ke-5 ( $p = 0.002$ ), dan hari ke-7 ( $p = 0.014$ ) (tabel 4.2).

**Tabel 4.2.** Hasil uji *Mann-Whitney* antar kelompok pada hari ke-1, -3, -5, dan -7 pasca perlakuan.

Hari perlakuan	Kelompok hewan coba		Sig.
Pertama	kontrol	Sepsis	.002
		Sepsis+Steroid	.002
Ketiga	Sepsis	Sepsis+Steroid	.269
		Sepsis+Steroid	.020
Kelima	Sepsis	Sepsis+Steroid	.002
		Sepsis+Steroid	.014
ketujuh	Sepsis	Sepsis+Steroid	.014

## BAB V

### PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan kelompok kontrol terdapat inflamasi intestinal derajat 1 (16.7%), namun demikian 83,3% diantaranya dalam kondisi normal. Pemaparan LPS pada hari pertama telah memperlihatkan terjadinya peningkatan derajat inflamasi pada grade 2 dan 3 (Tabel 4.1). Hal ini sesuai dengan pendapat Oscar *et al.*, (2006) yang menyatakan bahwa LPS adalah endotoksin yang merupakan komponen penting dari membran luar bakteri gram negatif dan dapat menginduksi terjadinya sepsis. Hal ini terjadi karena LPS akan menyebabkan aktivasi NF- $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B berperan dalam mengendalikan aktivasi sejumlah gen yang terlibat dalam pertumbuhan, diferensiasi, respon imunitas, inflamasi, dan kelangsungan hidup dari sel. Selain itu berdasarkan pendapat Hayden dan Ghosh (2008) selama inflamasi, faktor transkripsi NF- $\kappa$ B mengintegrasikan sinyal-sinyal yang diterima oleh *T-cell receptor* (TCR), *Toll-like receptors* (TLR) dan sitokin-sitokin, seperti TNF maupun IL-1, untuk mengatur transkripsi gen pro-inflamasi yang lain. Gen-gen target NF- $\kappa$ B ini diperlukan untuk aktivasi imunitas dan memusnahkan patogen-patogen. Dengan pengekspresian gen-gen tersebut maka akan berakibat pada sekresi sitokin pro-inflamasi yang berlebih. Sekresi sitokin yang berlebih ini selanjutnya akan menyebabkan sepsis yang merupakan suatu sindroma klinik sebagai manifestasi proses inflamasi imunologik yang terjadi karena adanya respon tubuh (imunitas)

yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme, yang pada penelitian ini menggunakan LPS untuk merangsang respon imunologik tersebut.

Proses inflamasi ini akan terus berlanjut dengan bertambahnya waktu, sehingga semakin terjadi peningkatan derajat inflamasi intestinal (tabel 4.1). Peningkatan inflamasi ini tentunya akan meningkatkan kerusakan dan gangguan fungsi pertahanan mukosa saluran pencernaan (Alscher *et al.*, 2001). Sehingga akan mengakibatkan ketidakmampuan dalam respon imunitas.

Perkembangan terapi dengan obat-obatan akan berdampak secara mendasar pada morbiditas dan mortalitas sepsis. Pemberian kortikosteroid dosis rendah pada hari pertama belum menunjukkan efek perubahan derajat inflamasi yang bermakna (tabel 4.2). Perubahan secara bermakna mulai terlihat pada hari ketiga dan pada hari ketujuh memperlihatkan derajat inflamasi seperti hari pertama.

Meskipun penelitian lain mengungkapkan penggunaan kortikosteroid seawal mungkin akan meningkatkan frekuensi infeksi nosokomial, infeksi polimikrobia dan infeksi jamur selama dirawat di rumah sakit. Sehingga kortikosteroid akan meningkatkan resiko kematian ataupun kecacatan pada pasien-pasien dengan *acute critical illness* (Rady *et al.*, 2006). Menurut Xiao *et al.*, (2006), sepsis ada dua tahapan yaitu tahap awal (*early sepsis*) dan tahap lanjut (*chronic sepsis*/lebih dari 5 hari pertama). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian kortikosteroid dosis rendah mampu memberikan efek penekanan inflamasi intestinal pada sepsis tahap awal, dengan bertambahnya waktu sepsis terlihat semakin kurang efektif (tabel 4.1 dan gambar 4.5). Hal ini

diperkuat oleh pendapat Shepherd *et al.*, (2005), yang menyatakan bahwa kortikosteroid dosis tinggi akan menekan sistem imun, sedangkan dosis rendah mampu meningkatkan sistem imun.

Meskipun penggunaan kortikosteroid dosis rendah pada sepsis tahap awal masih diperdebatkan. Pada keadaan syok septik (sepsis tahap lanjut), efek kortikosteroid pada imunitas tergantung pada kondisi-kondisi sebelumnya dan barangkali yang paling penting adalah tergantung pada dosis dan waktu pemberian. Bukti yang menguntungkan dari efek kortikosteroid pada infeksi adalah penurunan dari petanda-petanda inflamasi. Dalam beberapa penelitian kortikosteroid dosis rendah tidak menginduksi terjadinya *immunoparalysis*. Sehingga penggunaan kortikosteroid dosis rendah yang mempunyai efek antiinflamasi spektrum luas tanpa menyebabkan penekanan sistem imun, mungkin merupakan suatu pilihan untuk mendapatkan stabilitas hemodinamik (Keh *et al.*, 2003). Titik tangkap pemberian kortikosteroid dosis rendah pada sepsis adalah mengurangi respon inflamasi sistemik, sebagai *vasopressor*, menghambat produksi sitokin pro-inflamasi, menghambat produksi mediator-mediator inflamasi seperti *cyclooxygenase-2*, menurunkan adhesi leukosit ke endotel (Annane and Caillon, 2003; Rhen and Cidlowski, 2005).

## BAB VI

### SIMPULAN DAN SARAN

#### A. Simpulan

Kortikosteroid dosis rendah menurunkan derajat inflamasi intestinal mencit Balb/C model sepsis paparan lipopolisakarida.

#### B. Saran

Dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kinetik penggunaan kortikosteroid dosis rendah pada sepsis tahap awal dan lanjut.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Abbas, A.K and A.H Lichtman, 2005. *Cellular and Molecular Immunology*. 5<sup>th</sup>ed.Philadelphia:Elsevier Saunders, pp : 277-294.
- Alscher T. Kurt, P. Terry Phang, Trenea E. McDonald, and Keith R. Walley. 2001. Enteral feeding decreases gut apoptosis, permeability, and lung inflammation during murine endotoxemia. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*; 281: G569-G576.
- Amersfoort Edwin S., Theo J. C. Van Berkel, and Johan Kuiper. 2003. Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *Clin Microbiol Rev. July*; 16(3): 379–414.
- Annane D., Caillon DM. Corticosteroid in sepsis : From bench to bedside. *Shock* 2003; 20:197-207.
- Ayala Alfred, Doreen E. Wesche-Soldato, Mario P, Joanne L. Lomas-Neira, Ryan Swan, and Chun-Shiang Chung. 2007. Blockade of Apoptosis as a Rational Therapeutic Strategy for the Treatment of Sepsis. *Novartis Found Symp.*; 280: 37–164.
- Birnbaum Jürgen, Edda K., Claudia DS., Björn L., Patrick S., Ortrud VH., Matthias G., Dragan P., TU., Michael W., Wolfgang JK., and Christian L. 2006. Effects of dopexamine on the intestinal microvascular blood flow and leucocyte activation in a sepsis model in rats. *Crit Care*.10(4): R117.
- Chang C. and Miller JF. 2006. Campylobacter jejuni Colonization of Mice with Limited Enteric Flora. *Infect Immun. September*; 74 (9) : 5261-5271.
- Chinnaiyan Arul M., Markus HL., Chandan KS., Terrence RB., Sunita SS., Vidya JS., Vaishalee AP., and Peter AW. 2001. Molecular Signatures of Sepsis Multiorgan Gene Expression Profiles of Systemic Inflammation. *Am J Pathol. October*; 159(4): 1199–1209.
- Cirioni Oscar, Andrea G., Roberto G., Cristina B., Fiorenza O., Carmela S., Federico M., Alberto L., Barbara S., Marco R., Vittorio S., Margherita Z. and Giorgio S. 2006. LL-37 Protects Rats against Lethal Sepsis Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother. May*; 50(5): 1672–1679.
- Corral Javier, José Y., David HE., Yolanda M., Ruben M., Isabel A., Antonia M., Pascual P., and Vicente V. 2005. Role of Lipopolysaccharide and Cecal Ligation and Puncture on Blood Coagulation and Inflammation in



- Sensitive and Resistant Mice Models. *Am J Pathol. April*; 166(4): 1089–1098.
- Diding HP. dan Guntur H. 2008. Effect of Probiotic (Bion-3®) on Grading Inflammation in Intestinal Mucosa. *Proceedings of National Symposium : The Second Indonesia SEPSIS Forum*.Surakarta:PETRI, pp:32-38.
- Gatot Ismanoe. 2008. The Role of Cytokine in The Pathobiology of Sepsis. *Proceedings of National Symposium : The Second Indonesia SEPSIS Forum*.Surakarta:PETRI, pp:114-117.
- Gartner Leslie P. and Hiatt James L. 2007. *Color textbook of histology*. Philadelphia: Elsevier Saunder, pp: 398-406.
- Gonzalez-Rey Elena, Alejo C., Gema R., and Mario D. 2006. Cortistatin, a new antiinflammatory peptide with therapeutic effect on lethal endotoxemia. *J Exp Med. March*; 203(3): 563–571.
- Goodman Sergery and Charles L Sprung. 2002. The International Sepsis Forum's controversies in sepsis: corticosteroids should be used to treat septic shock. *Crit Care*. 6(5): 381–383.
- Guntur H, A. 2008a. Clinical Observation of IVIG (Intravenous Immunoglobulins) in Management of Sepsis. *Proseding of National Symposium : The Second Indonesia SEPSIS Forum*.Surakarta:PETRI, pp:106-112.
- Guntur H, A. 2008b. *SIRS, SEPSIS & Syok Septik (Imunologi, Diagnosis, Penatalaksanaan)*. Edisi 1. Surakarta. UNS Press. pp:4; 38; 61.
- Huiqing Li, M.D., Wenrui Xie, Ph.D., Judith A. Strong, Ph.D, and Jun-Ming Zhang, M.Sc., M.D. 2007. Systemic Anti-inflammatory Corticosteroid Reduces Mechanical Pain Behavior, Sympathetic Sprouting, and Elevation of Pro-inflammatory Cytokines in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Anesthesiology. September*; 107(3): 469–477.
- Hayden MS, Ghosh S. 2008. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*. 132: 344-362.
- Irene E, Karl. 2007. *Pathogenesis of Sepsis and Multiorgan Dysfunction*. <http://research.medicine.wustl.edu/OCFR/Research.nsf?OpenDatabase> (15 April 2008).
- James MJ., Naeem AA., and Edward A. 2005. Year in review in Critical Care, 2004: sepsis and multi-organ failure. *Crit Care*. 9(4): 409–413.



- Jessen Marie Kristine, Sarah B.L., Anncatrine LP., Jesper EO., and Thomas B. 2007. Common TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 polymorphisms are not associated with disease severity or outcome from Gram negative sepsis. *BMC Infect Dis.* 7: 108.
- Junqueira Luiz Carlos and Carneiro Jose. 2005. *Basic Histology text and atlas 11<sup>th</sup> ed.* Boston: Mc Graw Hill Co, pp: 298-331.
- Kaneko M., Akiyama Y., Takimoto H., Kumagawa Y. 2005. Mechanism of Up-Regulation of Immunoglobulin A Production in the Intestine of Mice Unresponsive to Lipopolysaccharide. *Immunology*, 116, p : 64.
- Keh D, Boehnke T, Weber-Carstens S. 2003. Immunologic and hemodynamic effects of "low-dose" hydrocortisone in septic shock: A double blind, randomized, placebo-controlled, crossover study. *AJRCCM.*;167:512-520.
- Knoben J.E. and Anderson P.O. 1988. Handbook of Clinical Drug Data, 6th ed. *Drug Intelligence Pub, Inc.*
- Larosa P, Steven. 2005. Use of corticosteroids in the sepsis syndrome: What do we know now?. *Cleveland Clinic Journal of Medicine.* December; 72.
- Lauralee Sherwood. 2001. *Fisiologi manusia: dari sel ke sistem.*Ed2. Jakarta: EGC. Hal: 354-356.
- Murti B. 2006. *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan.* Yogyakarta : UGM Press, p: 83.
- Pudjiastuti. 2008. Imunoglobulin Intravena Pada Anak dan Bayi Dengan Sepsis. *Prosiding of National Symposium : The Second Indonesia SEPSIS Forum.*Surakarta:PETRI, pp:100-105.
- Oscar C., Andrea G., Roberto G., Cristina B., Fiorenza O., Carmela S., Federico M., Alberto L., Barbara S., Marco R., Vittorio S., Margherita Z. and Giorgio S. 2006. LL-37 Protects Rats against Lethal Sepsis Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* May; 50(5): 1672–1679.
- Purawisastra S. 2001. Penelitian Pengaruh Isolat Galaktomanan Kelapa terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Kelinci. <http://digilib.ekologi.litbang.depkes.go.id/office.php?m=bookmark&id=jkpkbppk-gdl-grey-2001-suryana-108-galaktomanan>. (4 Desember 2008).
- Rady MY., Johnson DJ., Patel B., Larson J. and Helmers R. 2006. Corticosteroids influence the mortality and morbidity of acute critical illness. *Critical Care.* Vol 10 No 4.

- Rhen T. and Cidlowski JA. 2005. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids – Nem Mechanisms for Old Drugs. *N Engl J Med.* 353:1711-23.
- Russel A, James. 2006. Management of Sepsis. *The New England Journal of Medicine.* October; Vol. 355:1699-1713.
- Suhardjono D., 1995. Percobaan Hewan Laboratorium. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal:207.
- Victor P. Eroschenko. 2003. *Atlas Histologi di fiore dengan korelasi fungsional Ed.9.* Jakarta: EGC. pp: 62-65; 199.
- Wang Xue-Lian, Ying Li, Jin-Song Kuang, Yue Zhao, Pei Liu. 2006. Increased heat shock protein 70 expression in the pancreas of rats with endotoxic shock. *World J Gastroenterol February 7;12(5):780-783.*
- Wesche-Soldato Doreen E., Ryan Z. Swan, Chun-Shiang Chung, and Alfred Ayala. 2007. The Apoptotic Pathway as a Therapeutic Target in Sepsis. *Curr Drug Targets.* April; 8(4):493-500.
- Xiao H., Siddiqui J., and Remick D.G. 2006. Mechanisms of Mortality in Early and Late Sepsis. *Infect Immun.* 74(9): 5227–5235.
- Yildiz Orhan, Mehmet D., Bilgehan A., Muhammet G., Fahrettin K., and Ahmet Tutuş. 2002. Physiological-dose steroid therapy in sepsis [ISRCTN36253388]. *Crit Care;* 6(3): 251–259.