

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL PROPOLIS TERHADAP DERAJAT
INFLAMASI INTESTINAL TIKUS PUTIH SEPSIS
INDUKSI *CECAL INOCULUM***

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



DEVIKA YULDHARIA

G0008079

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta

2012

commit to user

PENGESAHAN SKRIPSI

**Skripsi dengan judul: Pengaruh Ekstrak Etanol Propolis terhadap Derajat
Inflamasi Intestinal Tikus Putih Sepsis Induksi *Cecal Inoculum***

Devika Yuldharia, NIM: G0008079, Tahun: 2012

Telah disetujui dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
Pada Hari Selasa, Tanggal 10 Januari 2012

Pembimbing Utama

Nama : Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si.
NIP : 19680429 199903 1 001

**Pembimbing Pendamping**


Nama : Sarsono, Drs., M.Si.
NIP : 19581127 198601 1 001

**Penguji Utama**

Nama : R.P. Andri Putranto, dr., M.Si.
NIP : 19630525 199603 1 001

**Anggota Penguji**

Nama : Sri Hartati H., Dra., Apt., S.U.
NIP : 19490709 197903 2 001



Surakarta,

27 JAN 2012


Ketua Tim Skripsi



Muthmainah, dr., M.Kes.

NIP 19660702 199802 2 001

Dekan FK UNS

Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., SpPD-KR-FINASIM

NIP 19510601 197903 1 002

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, 10 Januari 2012

DEVIKA YULDHARIA

NIM. G0008079

ABSTRAK

Devika Yuldharia, G0008079, 2011, Pengaruh Ekstrak Etanol Propolis terhadap Derajat Inflamasi Intestinal Tikus Putih Sepsis Induksi *Cecal Inoculum*, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol propolis terhadap derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*.

Metode: Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratorik dengan *the post test only control group design*. Hewan uji adalah 40 ekor tikus putih jantan yang dibagi dalam lima kelompok, masing-masing delapan ekor. Kelompok K1 sebagai kontrol, K2 (Kelompok Sepsis) diberi material c.i. 1 ml/tikus putih/hari/i.p., K3 (Kelompok Sepsis+Propolis 100mg) diberi material c.i. 1 ml/tikus putih/hari/i.p. dan propolis dosis 0,5 ml/tikus putih/hari/oral, K4 (Kelompok Sepsis+Propolis 200mg) diberi material c.i. 1 ml/tikus putih/hari/i.p. dan propolis dosis 1 ml/tikus putih/hari/oral, dan K5 (Kelompok Sepsis+Cefepime) diberi material c.i. 1ml/tikus putih/hari/i.p. dan cefepime dosis 0,4 ml/tikus putih/hari/i.p. Pada hari ke-8 semua tikus putih dikorbankan, diambil intestinalnya, kemudian dibuat preparat histologisnya dengan menggunakan pewarnaan Hematoksilin Eosin untuk menentukan derajat inflamasinya. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji statistik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney*, menggunakan program SPSS for Windows Release 17.0. Perbedaan dikatakan signifikan bila $p < 0,05$.

Hasil: Penelitian menunjukkan derajat inflamasi intestinal pada kelompok K1 yaitu *grade* 0 (25%), *grade* 1 (50%), dan *grade* 2 (25%). Kelompok K2 yaitu *grade* 3 (37,5%), dan *grade* 4 (62,5%). Kelompok K3 yaitu *grade* 1 (37,5%), *grade* 2 (37,5%), dan *grade* 3 (25%). Kelompok K4 yaitu *grade* 1 (25%), *grade* 2 (12,5%), dan *grade* 3 (62,5%). Sedangkan kelompok K5 yaitu *grade* 0 (12,5%), *grade* 1 (50%), dan *grade* 2 (37,5%). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 dan K2 ($p = 0,001$), kelompok K1 dan K4 ($p = 0,011$), kelompok K2 dan K3 ($p = 0,002$), kelompok K2 dan K4 ($p = 0,005$), kelompok K2 dan K5 ($p = 0,001$), dan kelompok K4 dan K5 ($p = 0,024$).

Simpulan: Ekstrak etanol propolis dapat menurunkan derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*.

Kata kunci : Propolis, derajat inflamasi, sepsis

ABSTRACT

Devika Yuldharia, G0008079, 2011, The Effect of Ethanol Extract of Propolis with Intestinal Inflammation Grade in White Mouse Sepsis Model Cecal Inoculation, Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

Objective : This experiment was aimed to know the effect of ethanol extract of propolis with intestinal inflammation grade in white mouse sepsis model cecal inoculation.

Methods: This research is experimental laboratory with post test only control group design. The subject is 40 male white mouse that were divided into five groups with eight white mouse each group. K1 Group as control. K2 Group (Sepsis) was given cecal inoculums material 1 ml/white mouse/day/i.p. K3 Group (Sepsis+Propolis 100 mg) was given cecal inoculums material 1 ml/white mouse/day/i.p. and propolis with doses 0,5 ml/white mouse/day/oral. K4 Group (Sepsis+Propolis 200 mg) was given cecal inoculums material 1 ml/white mouse/day/i.p. and propolis with doses 1 ml/white mouse/day/oral. And K5 Group (Sepsis+Cefepime) was given cecal inoculums material 1 ml/white mouse/day/i.p. and Cefepime with doses 0,4 ml/white mouse/day/i.p. On day 8, subjects were sacrificed to take their intestines, were made histology slides by haematoxylin eosin staining for determining grading inflammation. Statistical analysis was performed with SPSS for Windows Release 17.0. The data was analyzed with Kruskal-Wallis method continued by Mann-Whitney method to determine significant differences, values of $p < 0,05$ were considered statistically significant.

Results: The study showed that K1 Group were grade 0 (25%), grade 1 (50%), and grade 2 (25%). K2 Group were grade 3 (37,5%), and grade 4 (62,5%). K3 Group were grade 1 (37,5%), grade 2 (37,5%), and grade 3 (25%). K4 Group were grade 1 (25%), grade 2 (12,5%), and grade 3 (62,5%). While K5 Group were grade 0 (12,5%), grade 1 (50%), and grade 2 (37,5%). There was significant difference among K1 group and K2 group ($p = 0,001$), among K1 group and K4 group ($p = 0,011$), among K2 group and K3 group ($p = 0,002$), among K2 group and K4 group ($p = 0,005$), among K2 group and K5 group ($p = 0,001$), and among K4 group and K5 group ($p = 0,024$).

Conclusion: This study concluded that propolis can decrease the inflammation grade of intestinal in white mouse sepsis model cecal inoculation.

Keywords: Propolis, inflammation grade, sepsis

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah Subhanahu wa Ta'ala. Dengan segala karunia dan rahmat-Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Pengaruh Ekstrak Etanol Propolis terhadap Derajat Inflamasi Intestinal Tikus Putih Sepsis Induksi *Cecal Inoculum*”**.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari berbagai hambatan dan kesulitan. Namun, berkat semua bimbingan dan bantuan, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., SpPD-KR-FINASIM selaku Dekan Fakultas Kedokteran UNS yang telah mengizinkan penulis untuk menyusun skripsi ini.
2. Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si. selaku Pembimbing Utama yang telah membantu dan meluangkan waktunya, kesabaran dalam memberi arahan, saran, koreksi, serta diskusi yang sangat bermanfaat kepada penulis.
3. Sarsono, Drs., M.Si. selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan banyak bimbingan, pengarahan, dan motivasi kepada penulis.
4. R.P. Andri Putranto, dr., M.Si. selaku Penguji Utama yang telah berkenan menguji sekaligus memberikan banyak saran, masukan, dan juga koreksi bagi penulis.
5. Sri Hartati H., Dra., Apt., S.U. selaku Anggota Penguji yang telah berkenan menguji serta memberikan kririk dan saran demi kesempurnaan penulisan skripsi ini.
6. Seluruh Dosen dan Staf Bagian Biokimia FK UNS atas kerjasama selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
7. Seluruh Dosen dan Staf Bagian Histologi FK UNS atas kerjasama dan bantuan yang diberikan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
8. Serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritik selalu terbuka demi sebuah perbaikan di masa datang. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat tidak hanya bagi penulis tapi juga bagi dunia kedokteran pada umumnya dan pembaca pada khususnya. Amin.

Surakarta, Januari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. LANDASAN TEORI.....	5
A. Tinjauan Pustaka.....	5
1. Propolis.....	5
a. Definisi Propolis.....	5
b. Komposisi Kimia Propolis.....	6
c. Aktivitas Biologis dan Farmakologis Propolis.....	7
d. Efek Samping Propolis.....	13
2. Histologi Intestinal.....	13
3. Sepsis.....	17
a. Definisi Sepsis.....	17
b. Etiologi Sepsis.....	18
c. Patofisiologi Sepsis.....	18
d. Penatalaksanaan Sepsis.....	21
4. Hewan Coba Model Sepsis.....	22
a. <i>Cecal Inoculum</i>	22
b. <i>Cecal Ligation and Puncture (CLP)</i>	23
c. <i>Lipopolisakarida (LPS)</i>	25
B. KERANGKA PEMIKIRAN.....	27
1. Kerangka Pikiran Konseptual.....	27
2. Kerangka Pikiran Teoritis.....	28
3. Hipotesis.....	30
BAB III. METODE PENELITIAN.....	31
A. Jenis Penelitian.....	31
B. Lokasi Penelitian.....	31
C. Subjek Penelitian.....	31
D. Teknik Sampling.....	31
E. Variabel Penelitian.....	32
F. Skala Variabel.....	32
G. Definisi Operasional.....	33

H. Induksi Hewan Coba Model Sepsis.....	38
I. Rancangan Penelitian.....	39
J. Alat dan Bahan Penelitian.....	40
K. Cara Kerja.....	41
L. Teknik Analisis Data.....	43
BAB IV. HASIL PENELITIAN.....	44
A. Hasil Penelitian.....	44
B. Analisis Data.....	50
BAB V. PEMBAHASAN.....	51
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	56
A. Simpulan.....	56
B. Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Struktur Molekul CAPE.....	10
Gambar 2.2. Struktur Molekul Kuersetin.....	11
Gambar 2.3. Gambaran Histologis Intestinal.....	16
Gambar 2.4. Gambaran Histologis Intestinal.....	16
Gambar 2.5. Skema Kerangka Pemikiran Konseptual.....	27
Gambar 3.1. Gambaran Histologis Neutrofil.....	35
Gambar 3.2. Gambaran Histologis Basofil.....	36
Gambar 3.3. Gambaran Histologis Eosinofil.....	36
Gambar 3.4. Gambaran Histologis Limfosit.....	37
Gambar 3.5. Gambaran Histologis Monosit.....	37
Gambar 3.6. Skema Rancangan Penelitian.....	39
Gambar 3.7. Skema Alur Penelitian.....	42
Gambar 4.1. Gambaran Histologis Intestinal Grade 0 pada Kelompok K1..	45
Gambar 4.2. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K1..	45
Gambar 4.3. Gambaran Histologis Intestinal Grade 3 pada Kelompok K2..	46
Gambar 4.4. Gambaran Histologis Intestinal Grade 4 pada Kelompok K2..	46
Gambar 4.5. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K3..	47
Gambar 4.6. Gambaran Histologis Intestinal Grade 2 pada Kelompok K3..	47
Gambar 4.7. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K4..	48
Gambar 4.8. Gambaran Histologis Intestinal Grade 3 pada Kelompok K4..	48
Gambar 4.9. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K5..	49
Gambar 4.10. Gambaran Histologis Intestinal Grade 2 pada Kelompok K5..	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Komposisi Kimia Propolis.....	7
Tabel 4.1. Jumlah dan Prosentase Derajat Inflamasi Intestinal pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan.....	44
Tabel 4.2. Hasil Uji Statistik Mann-Whitney Antarkelompok.....	50



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Jadwal Penelitian
- Lampiran 2. Hasil Uji Analisis Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney dengan Program SPSS 17.0 *for Windows*
- Lampiran 3. Tabel Konversi Dosis Manusia dan Hewan
- Lampiran 4. Tabel Daftar Volume Maksimal Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan
- Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sepsis merupakan *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) yang disebabkan oleh bakteri, jamur, virus, dan parasit (James *et al.*, 2005; Edwin *et al.*, 2003). Overproduksi sitokin inflamasi sebagai hasil aktivasi *nuclear factor-κB* (NF-κB) akan menyebabkan pelepasan mediator sekunder (seperti *Reactive Oxygen Species/ROS*) yang selanjutnya akan memperkuat inflamasi dan menyebabkan SIRS yang menginduksi terjadinya apoptosis maupun nekrosis jaringan, *multi organ failure* (MOF), syok septik serta kematian (Rittirsch *et al.*, 2008; Elena *et al.*, 2006; Javier *et al.*, 2005). Morbiditas dan mortalitas sepsis di Indonesia masih sangat tinggi (Guntur, 2008), sehingga sepsis masih merupakan masalah klinis yang penting meskipun telah terjadi kemajuan terapi (Xiao *et al.*, 2006), keadaan ini diperparah oleh meningkatnya kuman yang multiresisten terhadap antibiotik seperti *methicillin-resistant staphylococcus aureus* (MRSA), *vancomycin-resistant enterococci* (VRE), *penicillin-resistant pneumococci*, *extended-spectrum betalactamase* (ESBL) *producing Klebsiella pneumonia*, *carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii*, dan *multiresistant Mycobacterium tuberculosis* (Stevenson *et al.*, 2005; Guzman-Blanco *et al.*, 2000), sehingga berbagai penyakit akan menjadi lebih sulit diobati. Oleh sebab itu, diperlukan kombinasi antibiotik dalam penatalaksanaan sepsis.

Keadaan ini menyebabkan waktu rawat di rumah sakit lebih lama dan memerlukan terapi yang lebih rumit, dan biaya pengobatan yang jauh lebih mahal serta angka kematian yang meningkat (Hadi, 2009).

Banyak usaha telah dilakukan dalam menanggulangi sepsis agar tidak berkembang menjadi *severe sepsis*, syok septik dan MOF, namun masih belum berhasil secara baik dan pasien sepsis masih cenderung berakhir dengan kematian.

Proses patologi yang utama pada sepsis adalah apoptosis dari sel-sel efektor imunologi termasuk limfosit maupun apoptosis saluran pencernaan. Kematian sel mukosa yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan dan gangguan fungsi pertahanan mukosa saluran pencernaan (Alscher *et al.*, 2001), sehingga akan mengakibatkan ketidakmampuan dalam respon imun. Di dalam intestinal, infeksi menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi serta inflamasi intestinal. Inflamasi ini dapat dilihat dalam derajat inflamasi berupa adanya infiltrasi sel-sel radang ke dalam lapisan intestinal (Chang & Miller, 2006).

Propolis sebagai bahan alam non-toksik telah digunakan sebagai obat secara umum, namun mekanisme maupun bukti-bukti ilmiah belum banyak (Sivasubramaniam & Seshadri, 2005).

Propolis memiliki aktivitas biologis sebagai antimikrobal terhadap gram negatif, gram positif (Lotfy, 2006), MRSA (Boukraâ & Sulaiman, 2009; Onlen *et al.*, 2007) dan VRE (Boukraâ & Sulaiman, 2009), antifungal, antiprotozoa, antiparasit (El-Bassuony & Abouzid, 2010; Lotfy, 2006; Koo *et*

al., 2002). Selain itu, propolis juga memiliki aktivitas biologis sebagai imunomodulator, antioksidan dan antiinflamasi (El-Bassuony & Abouzid, 2010; Lotfy, 2006; Ahn *et al.*, 2004; Koo *et al.*, 2002).

Belum adanya bukti-bukti ilmiah penggunaan propolis untuk sepsis, mendorong dilakukannya penelitian ini. Berdasarkan sejumlah aktivitas biologis yang ditunjukkan oleh propolis tersebut, maka propolis memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi terapi adjuvan untuk dikombinasikan dengan antibiotik dalam penatalaksanaan sepsis. Sehingga akan menurunkan resistensi antibiotik, waktu rawat, mahal nya biaya dan menurunkan angka kematian akibat sepsis.

B. Perumusan Masalah

Adakah pengaruh ekstrak etanol propolis terhadap derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*?

C. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol propolis terhadap derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*.

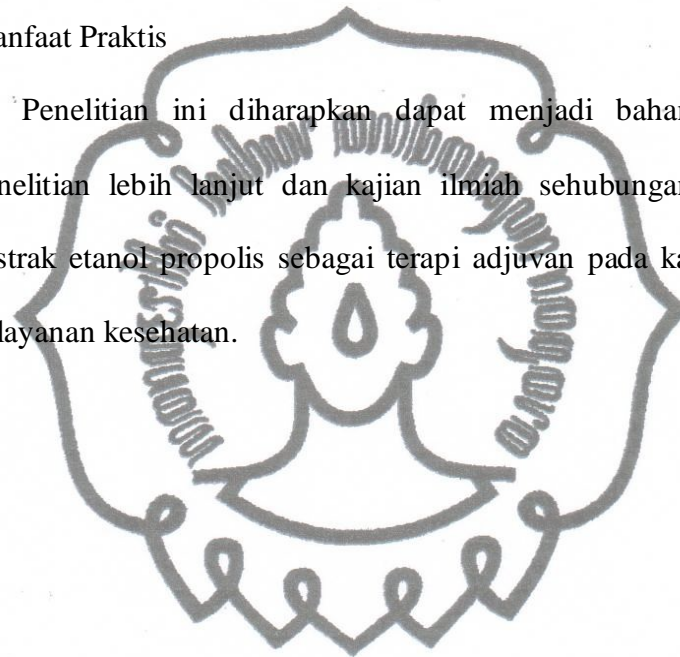
D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti-bukti empiris atau informasi tentang pengaruh ekstrak etanol propolis terhadap derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*.

2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan rujukan untuk penelitian lebih lanjut dan kajian ilmiah sehubungan dengan khasiat ekstrak etanol propolis sebagai terapi adjuvan pada kasus sepsis dalam pelayanan kesehatan.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Propolis

a. Definisi Propolis

Kata propolis berasal dari bahasa Yunani, yaitu *pro* berarti pertahanan dan *polis* berarti kota, sehingga propolis bermakna pertahanan kota (atau sarang lebah). Propolis atau lem lebah adalah nama generik yang diberikan untuk bahan resin yang dikumpulkan oleh lebah madu dari berbagai macam jenis tumbuhan, terutama dari bagian kuncup dan daun tumbuhan tersebut. Lebah kemudian mencampur bahan resin ini dengan enzim yang disekresikan dari kelenjar mandibula lebah, meskipun demikian komponen yang terdapat di dalam propolis tidak mengalami perubahan (Sabir, 2005).

Lebah menggunakan propolis untuk: (1) memperkuat sarang lebah; (2) sebagai bahan pelapis untuk melindungi sarangnya dari faktor pengganggu dari luar, misalnya serangga, kumbang, atau tikus; (3) meratakan dinding sarang lebah; (4) sebagai bahan pengisi lubang atau celah dan perekat keretakan yang terdapat pada sarang lebah; (5) melindungi sel sarang tempat ratu lebah menetas telurnya sehingga larva lebah terlindungi dari penyakit; dan (6) sebagai antibakteri (Sabir, 2005).

b. Komposisi Kimia Propolis

Komposisi propolis sangat bervariasi dan erat hubungannya dengan jenis dan umur tumbuhan di mana propolis tersebut berasal. Umumnya propolis terdiri dari: campuran resin dan getah 39–53%, polifenol 1,2–17%, polisakarida 2–3%, lilin (*wax*) 19–35%, dan bahan lain 8–12%. Penelitian terhadap propolis yang berasal dari 15 daerah yang berbeda di Rusia menunjukkan hasil yang hampir sama, yaitu: resin 50–55%, lilin (*wax*) maksimal 30%, minyak esensial \pm 8–10%, dan bahan padat \pm 5%. Jenis senyawa kimia yang terdapat pada propolis sangat kompleks. Berdasarkan analisis terhadap propolis yang dihimpun oleh lebah menunjukkan bahwa propolis mengandung berbagai macam senyawa, yaitu: asam amino, asam alifatik dan esternya, asam aromatik dan esternya, alkohol, aldehida, khalkon, dihidrokhalkon, flavanon, flavon, hidrokarbon, keton, dan terpenoid (Sabir, 2005). Komposisi kimia propolis disajikan pada tabel 2.1.

Tabel 2.1. Komposisi Kimia Propolis (diambil dari Sivasubramaniam & Seshadri, 2005).

Kelas komponen	Jumlah	Grup komponen
Resin	45-55 %	Flavonoid, asam fenolat dan esternya
Lilin dan asam lemak	25-53%	Sebagian besar dari lilin lebah dan beberapa dari tanaman
Minyak esensial	10%	Senyawa volatile
Protein	5%	Protein kemungkinan berasal dari polen dan amino bebas
Senyawa organik dan mineral lainnya	5%	14 macam mineral, yang paling terkenal adalah Fe dan Zn, sisanya seperti Au, Ag, Cs, Hg, La dan Sb. Senyawa lain seperti keton, laktan, kuinon, asam benzoate dan esternya, gula, vitamin B3.

c. Aktivitas Biologis dan Farmakologis Propolis

Propolis telah digunakan sejak dahulu kala sebagai obat tradisional, yaitu sebagai bio-kosmetik dan makanan untuk kesehatan (Castaldo & Capasso, 2002; Bankova *et al.*, 2000). Penelitian di bidang kesehatan terhadap propolis telah banyak dilakukan di luar negeri, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Hasilnya menunjukkan bahwa propolis memiliki beberapa aktivitas biologis dan farmakologis, antara lain: (1) bersifat antibakteri baik terhadap bakteri gram positif maupun negatif; (2) bersifat antiinflamasi; (3) memiliki aktivitas antijamur, terutama terhadap spesies dermatofita dan kandida; (4) propolis meningkatkan regenerasi jaringan tulang dan kartilago; dan (5) propolis bersifat antioksidan karena mampu menangkap radikal bebas. Selain itu

propolis juga berfungsi sebagai imunomodulator, antivirus dan antikarsinogenik (Sabuncuoglu *et al.*, 2007; Sabir, 2005).

1) Antibakteri

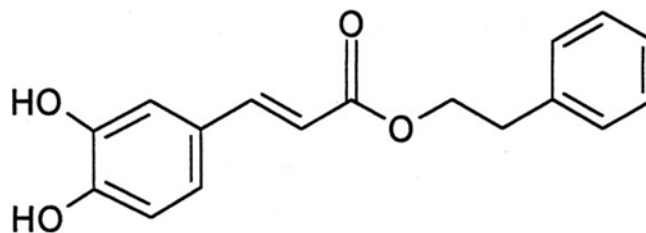
Sifat antibakteri dari propolis bukan semata-mata disebabkan karena senyawa tunggal, namun karena efek sinergis dari beberapa senyawa pada propolis yang bersifat antibakteri yakni: flavonoid, asam ferulat, ester asam fenol, asam sinamat, dan berbagai ester asam kafeat (Sabir, 2005).

Mekanisme propolis dalam menghambat pertumbuhan bakteri belum sepenuhnya diketahui, namun demikian penelitian sebelumnya melaporkan adanya beberapa komponen yang terdapat pada propolis yang mampu mengabsorpsi sinar ultraviolet sehingga menghambat kerja enzim polimerase *ribonucleic acid* (RNA) bakteri untuk melekat pada *deoxyribonucleic acid* (DNA) sehingga replikasi DNA bakteri tidak terjadi. Selain itu, komponen tersebut juga menghambat kerja dari enzim endonuklease restriksi sehingga tidak terjadi transkripsi pada RNA dan hal ini mengakibatkan pembelahan sel bakteri tidak terjadi karena terganggunya sintesis protein (Sabir, 2005). Mekanisme lain dikemukakan oleh Takaisi-Kikuni dan Schilcher dalam Sabir (2005) yang pada penelitiannya mendapatkan bahwa Ekstrak Etanol Propolis (EEP) bersifat antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus*

agalactiae melalui beberapa mekanisme, yakni dengan mencegah pembelahan sel bakteri dengan cara menghambat replikasi DNA sehingga menyebabkan terbentuknya *Streptococcus pseudo-multicellular*. Selain itu EEP juga menyebabkan terjadinya disorganisasi dari sitoplasma, membran sitoplasmik, serta dinding sel yang semuanya mengakibatkan bakteriolisis parsial dan penghambatan sintesis protein, sehingga dikatakan bahwa mekanisme antibakteri propolis terhadap bakteri sangat kompleks dan tidak dapat dianalogikan dengan cara kerja antibiotik klasik.

2) Antiinflamasi

Ekstrak etanol propolis menunjukkan aktivitas antiinflamasi baik akut ataupun kronik. EEP dosis 50 mg/kg BB/hari/oral dan 100 mg/kg BB/hari/oral menunjukkan aktivitas antiinflamasi kronik, sedangkan dosis 200 mg/kg BB/hari/oral menunjukkan aktivitas antiinflamasi akut pada hewan coba model. Efek antiinflamasi ini ditunjukkan oleh kandungan yang ada di propolis lebah yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) (Lotfy, 2006).



Gambar 2.1. Struktur Molekul CAPE (diambil dari Scapagnini *et al.*, 2002)

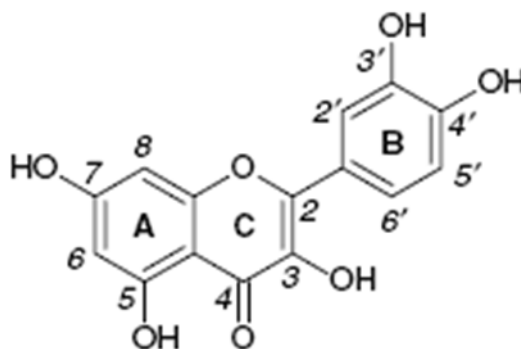
Caffeic acid phenethyl ester menunjukkan aktivitas immunosupresif baik pada tahap awal dan lanjut pada aktivasi yang dimediasi sel limfosit T. Secara spesifik CAPE menghambat transkripsi ataupun sintesis *interleukin-2* (IL-2). CAPE menghambat aktivitas pengikatan DNA dan transkripsi NF- κ B serta faktor transkripsi *nuclear factor of activated cells* (NFAT), dan *activator protein-1* (AP-1), tanpa mempengaruhi degradasi protein penghambat NF- κ B yang berada di sitoplasma. Sehingga propolis memiliki aktivitas sebagai immunomodulator dan antiinflamasi (Ang *et al.*, 2009; Marquez *et al.*, 2004).

3) Antivirus

Flavonoid dan CAPE yang terdapat dalam propolis mengganggu replikasi *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) dan menghambat integrasi enzim HIV. Senyawa dengan gugus molekul *caffeic acid* dianggap sebagai keluarga baru dari senyawa antivirus alam (Xu *et al.*, 2000).

4) Antifungal

Mekanisme antifungal dari propolis melibatkan zat-zat polifenol seperti flavonoid dengan penggumpalan protein DNA jamur sehingga kemampuan pertumbuhan jamur dihambat. Pinocembrin pada propolis menghambat pertumbuhan jamur melalui aktivitas pembungkusan konidia jamur yang selanjutnya menghambat pertumbuhan jamur secara keseluruhan (Sforcin *et al.*, 2001). Senyawa kuersetin menghambat sintesa DNA *gyrase* sehingga pertumbuhan jamur dihambat (Cushnie & Lamb, 2005).



Gambar 2.2. Struktur Molekul Kuersetin (diambil dari Santos *et al.*, 2008)

5) Antiprotozoa dan helminthes patogen

Propolis memiliki aktifitas antiprotozoa dan helminthes patogen. EEP efektif melawan *Trypanosoma cruzi* dalam penelitian secara *In Vitro*. Selain itu, penelitian *In Vitro* di Brazil menyebutkan bahwa EEP juga efektif melawan proliferasi dan

diferensiasi *Leishmania donovani*. Penelitian terhadap babi guinea yang terinfeksi *Ascaris suum* dan diobati dengan propolis menunjukkan terjadinya penurunan jumlah larva dibandingkan kelompok kontrol (De Castro, 2001).

6) Antioksidan

Propolis dapat berfungsi sebagai antioksidan kuat, yang dapat mencegah timbulnya senyawa-senyawa radikal bebas. Radikal bebas merupakan penyebab utama munculnya sel-sel kanker atau menimbulkan berbagai gejala penyakit akibat gangguan fisiologi sel tubuh. Propolis juga berfungsi sebagai penetral racun karena berbagai kandungan di dalam propolis dapat membersihkan polutan dan racun di dalam tubuh, sehingga metabolisme sel dapat berlangsung optimal kembali (Kumuzawa *et al.*, 2004).

7) Imunomodulator

Aktivitas imunomodulator dari propolis telah banyak diteliti secara *In Vivo* maupun *In Vitro*. Pada penelitian *In Vivo* didapatkan bahwa propolis dapat menstimulasi mekanisme pertahanan melalui stimulasi fagositosis oleh makrofag dan IL-1. Pada penelitian *In Vitro* ditemukan bahwa propolis dapat menghambat jalur klasik dan jalur alternatif komplemen. Propolis juga meningkatkan sitotoksitas dari *NK-cell* dan

menstimulasi produksi antibodi (De Castro, 2001; Orsi *et al.*, 2000).

d. Efek Samping Propolis

Selama 2500 tahun penggunaan propolis oleh berbagai masyarakat dari berbagai kebudayaan tidak tercatat adanya efek negatif yang serius dari propolis. Adapun efek ringan yang sering dirasakan oleh pasien adalah mulut dan tenggorokan terasa kering setelah mengkonsumsi propolis dan kulit yang terasa hangat setelah diolesi propolis. Propolis terbukti tidak menimbulkan efek toksik. Propolis sebaiknya tidak digunakan kepada orang yang mempunyai riwayat alergi terhadap *pollen* (serbuk sari) (Menniti-Ippolito *et al.*, 2008; Burdock, 1998).

2. Histologi Intestinal

Dinding intestinal terdiri atas empat lapisan utama yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna, dan serosa.

a. Mukosa Intestinal

Mukosa intestinal terdiri atas tiga lapisan, yaitu epitelium, lamina propria, dan muskularis mukosa.

1) Epitelium

Sel yang terdapat di bagian epitelium adalah:

a) Sel-sel absorbtif

Berbentuk silindris tinggi, pada permukaan apeks terdapat *striated border*, tidak menghasilkan mukus, hanya berfungsi absorbtif.

b) Sel-sel goblet

Menghasilkan mukus, mengandung glikoprotein asam, sebagai pelindung asam dan pelumas. Berbentuk seperti piala dan mengandung butir-butir *zymogen*.

c) Sel paneth

Hanya terdapat pada bagian basal kript intestinal, berbentuk piramid, dengan basal melebar dan puncak menyempit. Berperan sebagai penghasil lisosom, yaitu suatu enzim yang berperan mencerna dinding sel bakteri dan dapat memfagosit bakteri-bakteri tertentu.

d) Sel stem

Terletak pada bagian basal glandula intestinal, sebagai sumber sel-sel yang lain, baik dalam kript maupun dalam vili.

e) *Argentaffine cell* atau *Enterochromaffine cell*.

Terdapat di antara sel-sel yang melapisi vili dan kript. Sitoplasmanya bersifat mudah mengambil Ag dan garam-garam *chromium* sehingga berwarna coklat kekuningan.

2) Lamina Propria

Terdiri atas jaringan pengikat longgar dengan banyak serabut retikuler, kelenjar-kelenjar, dan kelompok limfosit. Lamina propria ikut membentuk plika semisirkularis kerkringi dan vili.

3) Muskularis Mukosa

Tersusun oleh lapisan dalam berbentuk sirkuler atau spiral dan bagian luar berbentuk longitudinal. Muskularis mukosa merupakan otot-otot polos yang membentuk plika semisirkularis yang berfungsi mendekatkan mukosa dengan makanan sehingga absorpsi lebih sempurna (Nugroho, 1998).

b. Submukosa

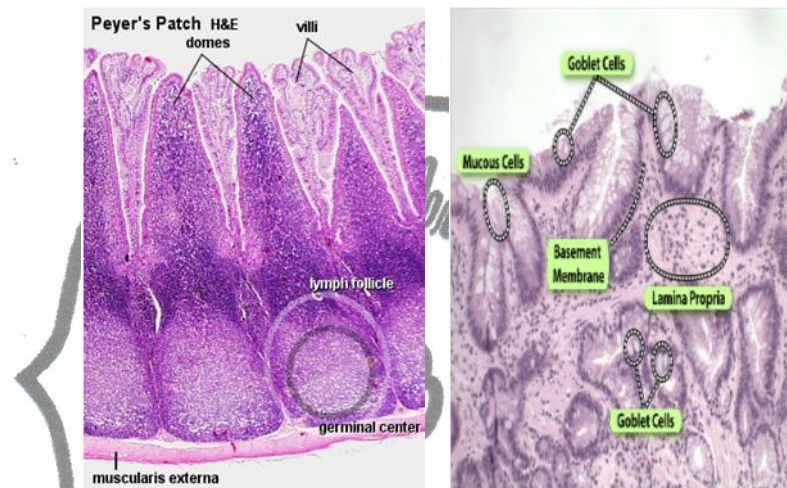
Terdiri atas jaringan pengikat longgar yang lebih padat dengan banyak serabut elastis dan sedikit jaringan lemak (Nugroho, 1998). Terdapat persarafan parasimpatis, yaitu pleksus meisner (Gartner & Hiatt, 2007).

c. Muskularis Eksterna

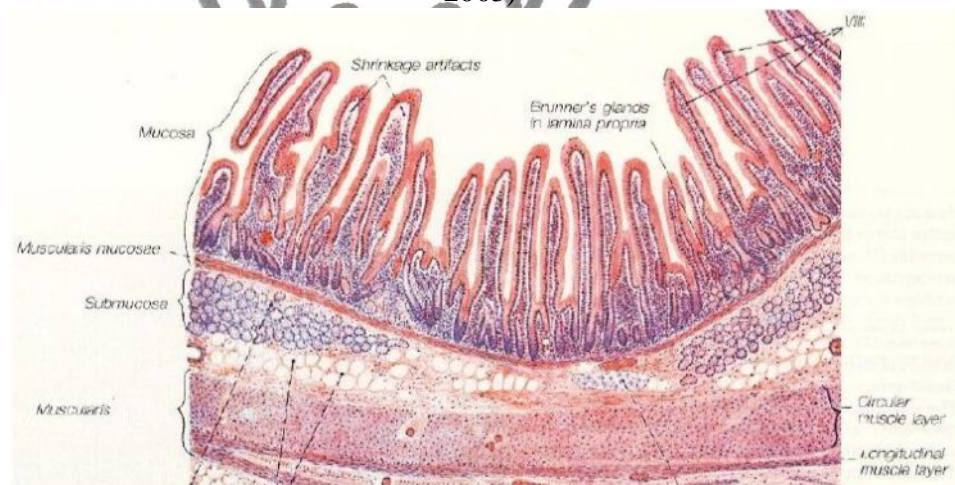
Terdiri atas dua lapisan, yaitu sirkular pada bagian dalam dan longitudinal pada bagian luar. Di antara kedua lapisan terdapat pleksus myentericus auerbach (Nugroho, 1998).

d. Serosa

Merupakan lapisan terluar dinding intestinal yang terdiri atas jaringan pengikat longgar dan tertutup oleh peritonium (Gartner & Hiatt, 2007; Nugroho, 1998).



Gambar 2.3. Gambaran Histologis Intestinal (diambil dari Eroschenko, 2003)



Gambar 2.4. Gambaran Histologis Intestinal (diambil dari Eroschenko, 2003)

3. Sepsis

a. Definisi Sepsis

Sepsis adalah suatu sindroma klinik yang terjadi karena adanya respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme. Sepsis merupakan sindroma klinik yang ditandai dengan: hipertermia (suhu tubuh lebih dari 38°C) atau hipotermia (suhu tubuh kurang dari $35,6^{\circ}\text{C}$), takipnea (frekuensi respirasi lebih dari 20 kali/menit), takikardia (denyut jantung lebih dari 100 kali/menit), leukositosis ($>12.000/\text{mm}^3$), leukopenia ($<4.000/\text{mm}^3$), atau 10% sel imatur, dengan atau tanpa ditemukan bakteremia (Guntur, 2008).

Derajat sepsis yaitu (Guntur, 2008):

- 1) *Systemic Inflammatory Response Syndrome*, ditandai dengan lebih dari atau sama dengan dua gejala, yaitu hipertermia/hipotermia ($> 38,3^{\circ}\text{C}/ < 35,6^{\circ}\text{C}$), takipnea (respirasi >20 kali/menit), takikardia (denyut jantung >100 kali/menit), leukositosis $>12.000/\text{mm}$ atau leukopenia $< 4.000/\text{mm}$, 10 % sel imatur.
- 2) Sepsis, yaitu infeksi disertai SIRS.
- 3) Sepsis berat, yaitu sepsis yang disertai *Multi Organ Dysfunction Syndrome* (MODS), hipotensi, oligouri, bahkan anuria.
- 4) Sepsis dengan hipotensi (tekanan sistolik < 90 mmHg atau penurunan tekanan sistolik > 40 mmHg).

commit to user

- 5) Syok septik, adalah subset dari sepsis berat, yang didefinisikan sebagai hipotensi yang diinduksi sepsis dan menetap kendati telah mendapat resusitasi cairan, dan disertai hipoperfusi jaringan.

b. Etiologi Sepsis

Sepsis dapat disebabkan oleh bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus, dan parasit (Guntur, 2006). Proporsi infeksi yang disebabkan bakteri gram negatif antara 30-80% dan bakteri gram positif antara 6-24% dari jumlah kasus sepsis (Jessen *et al.*, 2007). Stimulus dari sepsis adalah mikroorganisme atau substansi (zat) yang dikeluarkannya (seperti eksotoksin dan enterotoksin) atau komponen mikroorganisme (seperti endotoksin terutama lipid A dari bakteri gram negatif, peptidoglikan dari bakteri gram positif dan antigen jamur atau virus) (Munford, 2005). Faktor yang paling berperan penting terhadap sepsis adalah lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin glikoprotein kompleks dan dinyatakan sebagai penyebab sepsis terbanyak. Struktur lipid A dalam LPS bertanggung jawab terhadap reaksi inflamasi jaringan, demam, dan syok. LPS dapat langsung mengaktifkan sistem imun seluler dan humoral, yang dapat menimbulkan septikemia (Guntur, 2006).

c. Patofisiologi Sepsis

Sepsis merupakan penyebab utama kematian di antara pasien yang sakit kritis. Selama sepsis, bakteri patogen memicu pelepasan

ratusan mediator peradangan, termasuk sitokin, kemokin, molekul adhesi, ROS, dan *Reactive Nitrogen Species*. Walaupun molekul ini penting untuk respon pertahanan *host* terhadap bakteri patogen yang menyerang, produksi berlebihan dari mediator ini akan menyebabkan peradangan sistemik dan kerusakan jaringan yang mengarah kepada koagulasi, cedera endotel, kebocoran mikrovaskuler, dan disfungsi multiorgan (Ye *et al.*, 2008).

Faktor yang paling berperan penting terhadap sepsis adalah LPS. LPS bersifat stabil dalam panas, mempunyai berat molekul antara 3000 dan 5000 (lipooligosakarida) sampai beberapa juta (lipopolisakarida). Dalam aliran darah LPS akan terikat pada protein yang bersirkulasi kemudian berinteraksi dengan reseptor makrofag, limfosit, dan monosit serta sel lain pada sistem retikuloendotelial. Hal ini akan mengakibatkan pelepasan sitokin dan pengaktifan jalur komplemen dan koagulasi. Runtutan peristiwa tersebut dapat diamati secara klinis sebagai demam, leukopenia, hipoglikemia, hipotensi, syok, koagulasi intravaskuler hingga kematian karena disfungsi organ (Kang *et al.*, 2004).

Patofisiologi sepsis sangat kompleks akibat dari interaksi antara proses infeksi kuman patogen, inflamasi, dan jalur koagulasi (Russell, 2006) yang dikarakteristikkan sebagai ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi (seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *interferon- γ* (IFN- γ), IL-1 β , dan IL-6) dengan sitokin antiinflamasi

(seperti IL-4 dan IL-10). 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 sehingga menyebabkan nekrosis jaringan, MOF, serta kematian (Elena *et al.*, 2006). SIRS tidak terkendali merupakan dasar patologis penting dalam terjadinya sepsis, sedangkan disfungsi barier intestinal berkontribusi bagi pengembangan SIRS. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa disfungsi barier intestinal dapat berhubungan dengan penurunan fungsi kekebalan mukosa intestinal (Jiang *et al.*, 2010).

Proses patologik yang utama pada sepsis adalah terjadinya apoptosis dari sel-sel efektor imunologi, termasuk limfosit dan sel dendrit maupun apoptosis saluran pencernaan (Chang & Miller, 2006; Alscher *et al.*, 2001). Disfungsi endotel, inflamasi, dan cedera semakin diakui sebagai suatu mekanisme patogen penting dari berbagai kondisi patologis, termasuk sepsis (Venet, 2008; Ye *et al.*, 2008). Disfungsi saluran pencernaan akan mengakibatkan hilangnya pertahanan mukosa, peningkatan permeabilitas mukosa, dan translokasi dari produk-produk bakteri ke dalam sirkulasi darah, yang kemudian akan meningkatkan respon inflamasi pada organ yang lebih jauh, sehingga dapat terjadi disfungsi multiorgan dan kematian. Apoptosis saluran pencernaan dan kematian sel mukosa

yang berlebihan akan mendukung terjadinya atrofi, kerusakan dan gangguan fungsi pertahanan mukosa saluran pencernaan (Jiang *et al.*, 2010; Alscher *et al.*, 2001).

d. Penatalaksanaan Sepsis

Penatalaksanaan sepsis pada umumnya terdiri atas pemberian antibiotika dan pengobatan terhadap penyakit dasarnya (*underlying diseases*), serta eliminasi pusat infeksi dan sumber infeksi. Selain memberikan antibiotika, mempertahankan hemodinamika tetap normal, pengobatan adjuvan kortikosteroid, *intravenous immunoglobulin* (IVIG), protein C, serta imunonutrisi juga cukup bermanfaat dan dapat memelihara pasokan oksigen yang adekuat ke seluruh organ dan usus (Guntur, 2008; Jurgen *et al.*, 2006).

Prinsip pengelolaan sepsis dan syok septik (Sumarmo dkk., 2002):

1) Pengendalian infeksi

Segera setelah diagnosis ditegakkan penderita harus diberi antibiotik inisial. Antibiotik yang dipilih harus mempunyai spektrum luas yang diperkirakan bisa mengatasi bakteri gram positif atau negatif yang paling sering menyebabkan sepsis. Bila telah didapatkan hasil biakan dan uji kepekaan, jenis antibiotik dapat diubah atau dipertahankan sesuai dengan hasil tersebut dan atau dengan respons klinis.

- 2) Memperbaiki perfusi jaringan melalui resusitasi cairan, koreksi asam basa dan pemberian farmakoterapi kardiovaskular seperti dopamin dan dobutamin pada keadaan syok septik.
- 3) Mempertahankan fungsi respirasi secara efisien, antara lain dengan pemberian oksigen dan mengusahakan agar jalan nafas tetap terbuka.
- 4) *Renal support* untuk mencegah gagal ginjal akut.
- 5) Kortikosteroid dinyatakan bermanfaat bila diberikan pada stadium dini sepsis.

4. Hewan Coba Model Sepsis

Untuk menginduksi sepsis pada hewan coba, dapat dilakukan dengan berbagai cara, di antaranya adalah dengan *Cecal Inoculum*, *Cecal Ligation and Puncture*, serta Lipopolisakarida.

a. *Cecal Inoculum*

Infeksi intrabdomen merupakan salah satu sumber terjadinya sepsis. *Cecal inoculum* adalah suatu model yang mampu menggambarkan dengan baik keadaan sepsis mirip dengan keadaan klinis peritonitis yang disebabkan oleh infeksi polimikroba. Infeksi tersebut akan menghasilkan respon inflamasi peritoneum terhadap organisme polimikroba yang berasal dari saluran pencernaan. Peritonitis secara klinis dimulai dari adanya kerusakan dari organ abdomen, seperti perforasi intestinal akut yang akan berkembang menjadi sepsis dan akan mengakibatkan tingginya morbiditas dan

mortalitas baik pada hewan coba ataupun pasien (Remick *et al.*, 2002).

Inokulum merupakan bahan yang dipakai dalam inokulasi. Inokulasi adalah pemasukan mikroorganisme, bahan infeksius, serum, dan substansi lain ke dalam jaringan organisme hidup atau media biakan. Cecum adalah bagian pertama dari usus besar, membentuk kantong yang secara distal melebar ke ileum dan proksimal ke arah kolon, serta melepaskan apendiks vermiformis (Dorland, 2002).

Model sepsis yang dibuat dari *cecal inoculum* diperoleh dari isi *cecal* tikus putih donor (Brahmbhatt *et al.*, 2005) yang dimasukkan ke dalam kavitas peritoneal (Alejandra *et al.*, 2004). Dari model inokulum ini didapat strain *Escheriacia coli* (*E. coli*) yang bercampur dengan material *cecal* yang lain untuk meniru peritonitis pada manusia (Edwin *et al.*, 2003).

Cecal inoculum menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa intestinal, disfungsi barier intestinal dengan peningkatan permeabilitas intestinal, invasi bakteri patogen dan toksinnya ke dalam sirkulasi sistemik dan pelepasan sitokin inflamasi yang merupakan tanda reaksi inflamasi (Jurgen *et al.*, 2006).

b. *Cecal Ligation and Puncture (CLP)*

Ligasi adalah aplikasi pengikat. *Puncture* merupakan perbuatan menusuk dengan benda atau alat yang tajam, atau dapat diartikan

sebagai luka yang ditimbulkan oleh penusukan tersebut (Dorland, 2002).

Cecal Ligation and Puncture pada hewan tikus telah menjadi model yang paling banyak digunakan untuk penelitian sepsis dan saat ini dianggap sebagai *gold standard* untuk penelitian sepsis (Rittirsch *et al.*, 2007; Deitch, 2005; Buras *et al.*, 2005; Remick *et al.*, 2000). Setelah dikembangkan selama lebih dari 30 tahun yang lalu, model CLP dianggap menjadi model yang realistis untuk sepsis induksi polimikrobal dalam penelitian untuk mempelajari mekanisme terjadinya sepsis (Rittirsch *et al.*, 2007; Remick *et al.*, 2000). Secara singkat, CLP menampilkan ligasi di bawah katup *ileocecal* setelah *midline laparotomy*, diikuti dengan pungsi jarum pada cecum. Karena cecum merupakan sumber endogen kontaminasi bakteri, maka perforasi pada cecum akan menyebabkan peritonitis bakterial, yang diikuti oleh terjadinya translokasi bakteri enterik ke dalam kompartemen darah. Pada awal sepsis, terjadi bakteremia yang memicu aktivasi respon inflamasi sistemik, syok septik, MOF dan akhirnya kematian. Ketika CLP digunakan pada hewan tikus, mereka menunjukkan pola penyakit dengan gejala khas sepsis atau syok septik, seperti hipotermia, takikardi dan takipnea (Rittirsch *et al.*, 2008)

c. Lipopolisakarida (LPS)

Lipopolisakarida adalah kompleks lipid dan polisakarida dan merupakan komponen mayor dinding sel bakteri gram negatif. LPS merupakan endotoksin dan antigen grup spesifik yang penting (antigen O). Molekul LPS terdiri dari tiga bagian, yaitu (1) Lipid A, suatu glikolipid yang bertanggung jawab terhadap aktivitas endotoksik, yang terkait secara kovalen pada rantai heteropolisakarida yang mempunyai dua bagian; (2) inti polisakarida yang konstan dalam strain terkait, dan (3) rantai spesifik-O yang sangat bervariasi. LPS dari *Eschericia coli* sangat sering menggunakan mitogen sel B (aktivator poliklonal) dalam laboratorium imunologi (Dorland, 2002).

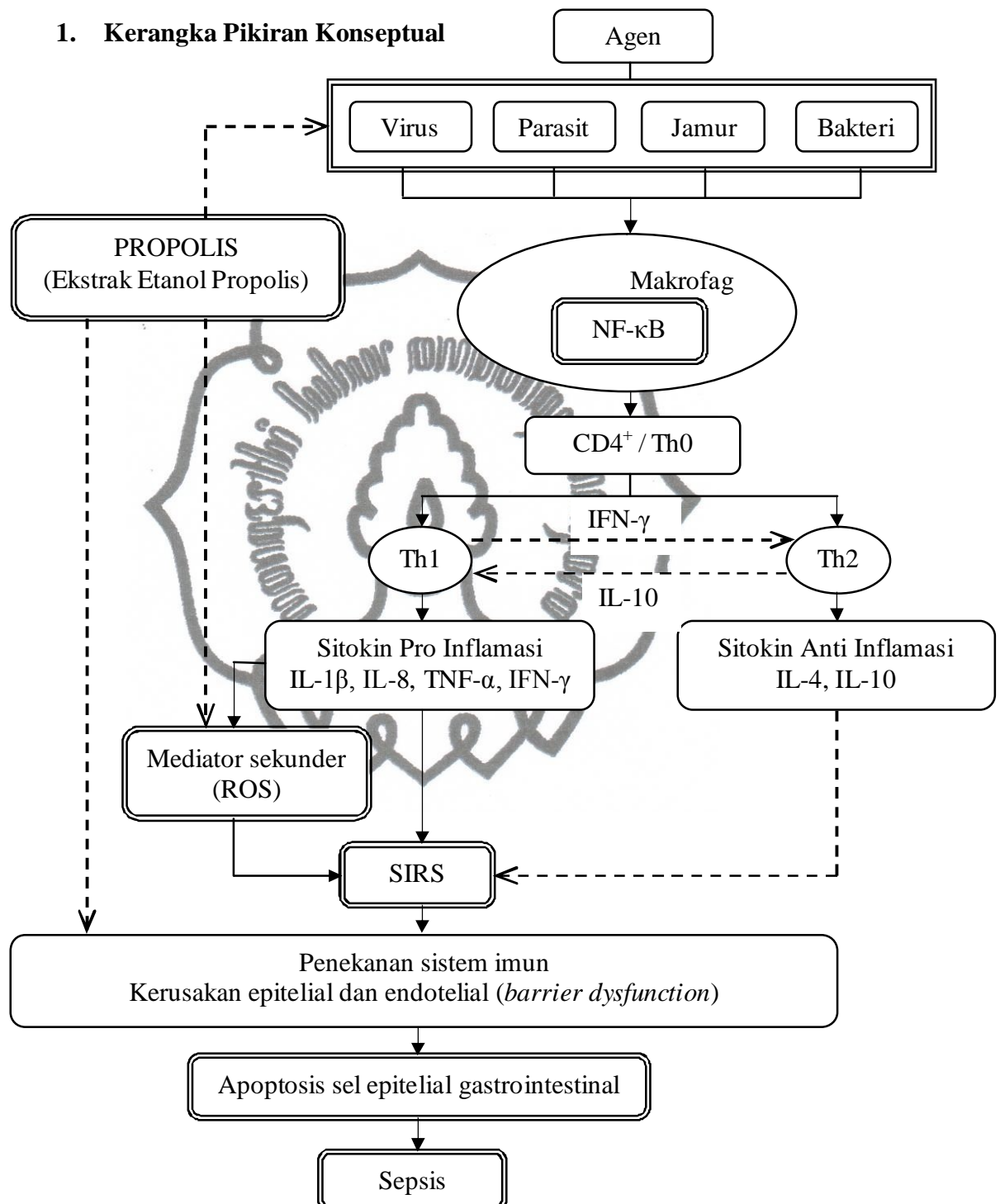
Lipopolisakarida merupakan faktor patogenik utama pada sepsis gram negatif, yang ditandai dengan syok, koagulopati, dan disfungsi multiorgan. Respons terhadap paparan LPS sistemik menyebabkan meningkatnya produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , NF- κ B, IL-1, IL-8 sebagai media pertahanan tubuh terhadap benda asing yang memiliki dampak positif dan negatif. Produksi sitokin proinflamasi dan induksi mediator seluler yang lebih distal, *platelet activation factor* (PAF), dan prostaglandin menyebabkan hipotensi, perfusi organ inadekuat, dan kematian sel yang berhubungan dengan MODS. Status proinflamasi ini didefinisikan sebagai SIRS. LPS disuntikkan secara intraperitoneal pada hewan coba yang sensitif

terhadap LPS dengan dosis 20 mg/kg BB (Wright *et al.*, 2002; Favier *et al.*, 2001; Oberholzer *et al.*, 2001).



B. Kerangka Pikiran

1. Kerangka Pikiran Konseptual



Gambar 2.5. Skema Kerangka Pemikiran Konseptual

Keterangan:

—→ : memacu
 - - - -> : menghambat

commit to user

2. Kerangka Pikiran Teoritis

Agen-agen penginfeksi (virus, parasit, jamur, bakteri) akan menginvasi sel tubuh melalui *Toll Like Receptor* (TLR) masuk ke makrofag sebagai *Antigen Presenting Cell* (APC) dan akan memicu aktivasi dari NF- κ B. Dengan aktivasi NF- κ B maka akan mengaktivasi protein-protein (sitokin dan *survival agent*), sehingga protein-protein agen akan didegradasi di dalam makrofag menjadi peptida untuk selanjutnya dipresentasikan kepada sel *T-Cluster of Differentiation 4* (CD4) atau *T-helper 0* (Th0), kemudian akan berdiferensiasi menjadi CD4⁺ Th1 dan CD4⁺ Th2. Th1 akan memproduksi sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , IL-8, TNF- α , serta IFN- γ . Sebaliknya, Th2 akan mensekresikan sitokin-sitokin antiinflamasi. Pada sepsis terjadi perubahan keseimbangan dimana Th1 lebih dominan daripada Th2 sehingga sitokin proinflamasi akan lebih dominan.

Tumor necrosis factor- α merupakan sitokin proteolitik yang akan mendegradasi protein-protein sel yang ada dalam tubuh, termasuk sel endotel, sel gastrointestinal, maupun sel imunokompeten lainnya seperti sel limfosit, sehingga sel-sel tersebut akan mengalami lisis. Lisisnya sel-sel dalam tubuh akan menghasilkan debris. Sel-sel ini akan bersifat sebagai oksidan yang akan memicu timbulnya ROS. Banyaknya ROS atau stres oksidatif akan memicu terjadinya inflamasi secara sistemik yang disebut SIRS. Kejadian ini akan memicu banyaknya apoptosis sel-sel gastrointestinal. Dengan terjadinya disfungsi barier gastrointestinal

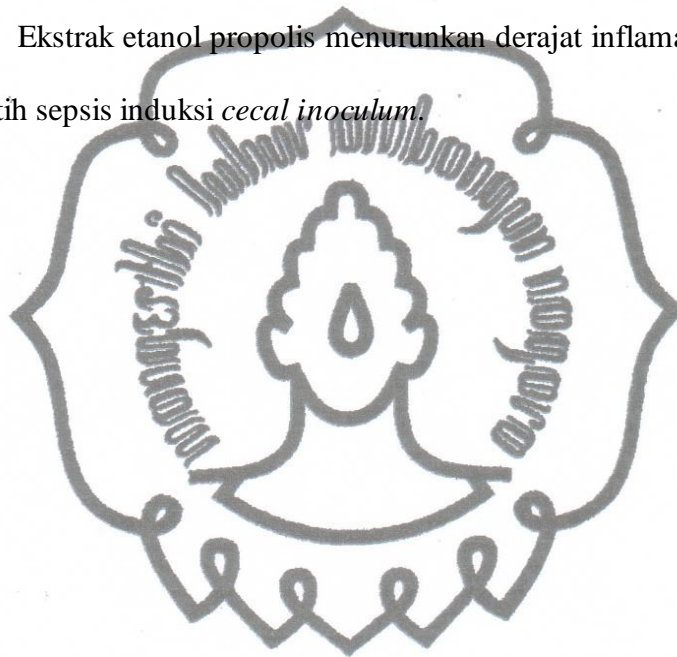
maka sistem imunitas di traktus gastrointestinal akan mengalami penurunan sehingga akan lebih mempermudah terjadinya invasi agen-agen tersebut. Selain itu, karena terjadi *immunocompromised*, kuman-kuman komensal akan menjadi kuman-kuman patogen. Keadaan ini akan memperparah terjadinya sepsis, syok sepsis, sampai kematian.

Propolis memiliki berbagai aktivitas biologis yang bisa dimanfaatkan dalam penatalaksanaan sepsis, antara lain (1) anti agen infeksius, seperti antibakteri, antivirus, antifungal, antiprotozoa, dan anti patogen lainnya. Sebagai antibakteri, propolis mampu menghambat bakteri MRSA, VRE, serta ESBL yang pada saat ini sudah banyak terjadi resistensi antibiotik, sehingga dapat digunakan pada penatalaksanaan sepsis; (2) antioksidan, karena pada sepsis banyak terjadi peningkatan produk radikal bebas (ROS), maka propolis bisa dimanfaatkan sebagai penatalaksanaan sepsis yang akan menurunkan inflamasi (SIRS); (3) antiinflamasi, dimana sepsis merupakan SIRS dengan infeksi, maka propolis dapat dimanfaatkan sebagai penatalaksanaan sepsis; dan (4) imunomodulator, dimana propolis akan menstimulasi fagositosis oleh makrofag serta menurunkan produksi sitokin TNF- α , selain itu propolis juga mampu menghambat komplemen, baik jalur klasik maupun jalur alternatif. Propolis juga meningkatkan efek sitotoksitas dari *NK-cell* dan mampu menstimulasi produksi antibodi. Efek ini memperlihatkan bahwa propolis lebih meningkatkan aktivitas sel CD4⁺ Th2.

Dengan berbagai aktivitas biologis yang dimiliki oleh propolis tersebut diharapkan pemberian EEP mampu mencegah terjadinya inflamasi traktus gastrointestinal sehingga dapat mencegah terjadinya sepsis.

3. Hipotesis

Ekstrak etanol propolis menurunkan derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat *experimental laboratorium* dengan *the post test only control group design*.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jantan dengan berat badan 200 gram dan berumur empat sampai enam minggu. Tikus putih diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Setya Budi, Surakarta. Bahan makanan tikus putih yang digunakan adalah BR I.

D. Teknik Sampling

Pengelompokan sampel menggunakan teknik *purposive random sampling*. Besarnya sampel ditentukan dengan menggunakan Rumus Federer (Federer, 1959), yaitu:

$$(t - 1) (n - 1) > 15$$

Dimana (t) adalah kelompok perlakuan, dan (n) adalah jumlah sampel per kelompok perlakuan.

Dalam penelitian ini subjek dibagi menjadi lima kelompok, sehingga dengan rumus tersebut diperoleh besar sampel :

$$(t - 1) (n - 1) > 15$$

$$(5 - 1) (n - 1) > 15$$

$$4(n - 1) > 15$$

$$4n > 19$$

$$n > 5$$

Minimal hewan coba yang digunakan adalah lima ekor. Karena tingkat mortalitas sepsis cukup tinggi, peneliti mengambil sampel sejumlah delapan ekor tikus putih untuk tiap kelompok.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: ekstrak etanol propolis
2. Variabel terikat: derajat inflamasi intestinal
3. Variabel perancu
 - a. Dapat dikendalikan : makanan, minuman, genetik, jenis kelamin, umur, berat badan.
 - b. Tidak dapat dikendalikan: variasi kepekaan tikus putih terhadap suatu zat.

F. Skala Variabel

1. Ekstrak etanol propolis : skala nominal
2. Derajat inflamasi intestinal : skala ordinal

G. Definisi Operasional

1. Ekstrak Etanol Propolis (EEP)

Propolis pada penelitian ini diperoleh dari peternak lebah di daerah Kecamatan Kerjo, Kabupaten Karanganyar, Surakarta, Jawa Tengah. Ekstraksi dilakukan dengan metode perkolasi dengan alat perkolator. Sekitar 1 gram (akurasi penimbangan sampai 0,0001 gram) bubuk propolis mentah diekstraksi dengan 10 mL cairan penyari etanol 80%. Bubuk propolis diletakkan di tengah bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori kemudian etanol 80% dialirkan dari atas ke bawah melalui bubuk propolis tersebut. Etanol 80% akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai keadaan jenuh. Dari proses tersebut dihasilkan perkolat yang nantinya akan dipekatkan dengan alat evaporator. Perkolat yang sudah kental dibuat hingga 25 mL dengan etanol 80% dan disimpan dalam botol sampai analisis (Fu *et al.*, 2005).

Ekstrak etanol propolis dosis 50 mg/kg BB/hari/oral dan 100 mg/kg BB/hari/oral menunjukkan aktivitas antiinflamasi kronik, sedangkan dosis 200 mg/kg BB/hari/oral menunjukkan aktivitas antiinflamasi akut pada hewan coba model (Lotfy, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Sabuncuoglu (2007) menggunakan dosis 100 mg/kg BB/hari untuk setiap tikus putih. Sehingga dalam penelitian ini digunakan dosis 100 mg/kg BB/hari/oral dan 200 mg/kg BB/hari/oral untuk setiap tikus putih.

Dengan berat badan tikus putih kurang lebih 200 gram maka dosis yang digunakan adalah:

$$\frac{200 \text{ gr}}{1000 \text{ gr}} \times 200 \text{ mg} = 40 \text{ mg/tikus putih/hari/oral}$$

Dosis maksimal pemberian secara oral pada tikus putih dengan berat 200 gram adalah 10,0 mL (Suhardjono, 1995). Pada penelitian ini dalam 25 mL EEP terkandung 1 gram propolis, sehingga dosis pemberian EEP secara oral yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \frac{1000 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} &= \frac{40 \text{ mg}}{x} \\ x &= \frac{40 \text{ mg} \times 25 \text{ mL}}{1000 \text{ mg}} \\ x &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

Sehingga setiap 1 mL EEP mengandung 40 mg propolis. Untuk dosis 200 mg/kg BB/hari/oral setiap tikus putih akan mendapatkan dosis 1 mL EEP/hari/oral. Sedangkan untuk dosis 100 mg/kg BB/hari/oral, maka setiap tikus putih akan mendapatkan dosis 0,5 mL EEP/hari/oral.

2. Derajat Inflamasi Intestinal

Derajat inflamasi intestinal ditentukan dengan adanya infiltrasi sel-sel radang, yaitu neutrofil, basofil, eosinofil, limfosit, dan monosit ke dalam lapisan dinding intestinal yang dinyatakan dengan derajat inflamasi. Skala pengukuran variabel ini adalah skala ordinal.

Penentuan tingkatan inflamasi intestinal (Chang & Miller, 2006):

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

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

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

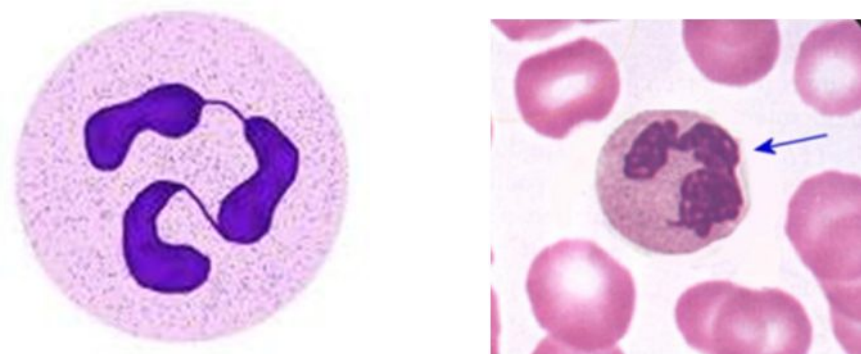
Grade 3 : infiltrasi sel radang sampai ke lapisan submukosa.

Grade 4 : infiltrasi sel radang sampai ke lapisan muskularis.

Sel-sel radang yang diamati antara lain:

a. Neutrofil

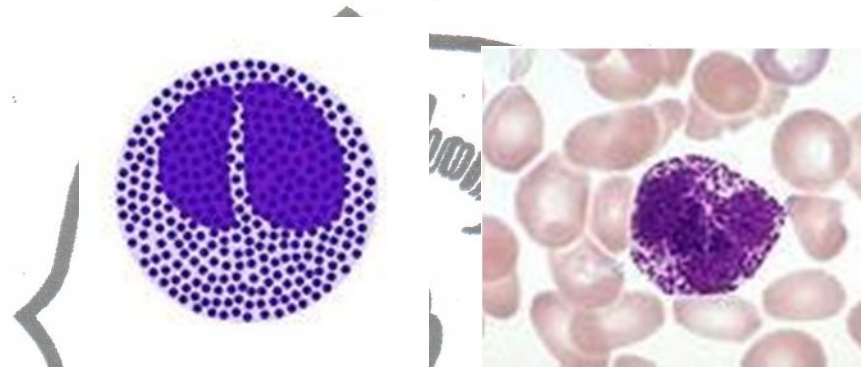
Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama bila ada kerusakan jaringan atau bila ada benda asing yang masuk. Granula yang terdapat dalam sitoplasma neutrofil bereaksi baik dengan zat warna asam maupun basa. Pada pewarnaan wright granula tersebut membentuk warna netral atau biru. Pada sel yang matang, kromatin inti memadat membentuk gumpalan atau lobus, yang dihubungkan satu dengan yang lain oleh benang-benang halus. Sel ini disebut leukosit polimorfonuklear karena bentuk intinya bermacam-macam (Widdman, 1995).



Gambar 3.1. Gambaran Histologis Neutrofil (diambil dari Eroschenko, 2003)

b. Basofil

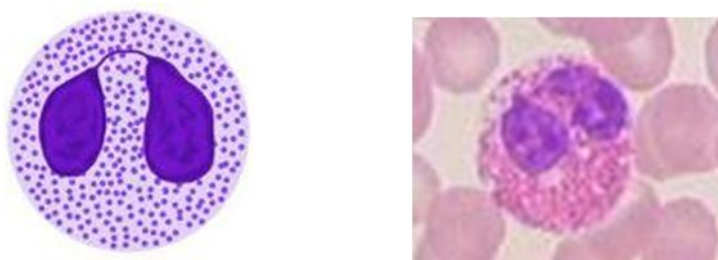
Jumlah basofil dalam sirkulasi hanya 1% dari jumlah leukosit. Pada pewarnaan yang bereaksi basa, granula sel ini tampak kasar dan berwarna biru, sedangkan pada pewarnaan metakromatik akan berwarna terang (Widdman, 1995).



Gambar 3.2. Gambaran Histologis Basofil (diambil dari Eroschenko, 2003)

c. Eosinofil

Eosinofil merupakan granulosit dengan inti yang terbagi menjadi 2 lobus dengan sitoplasma bergranula kasar, refraktil, dan berwarna merah tua oleh zat warna yang bereaksi asam yaitu *eosin* (Widdman, 1995). Eosinofil dipandang sebagai tanda penyakit alergi (Bellanti, 1993). Pada keadaan normal jumlahnya hanya 2-4% dari leukosit darah (Eroschenko, 2003).



Gambar 3.3. Gambaran Histologis Eosinofil (diambil dari Eroschenko, 2003)

d. Limfosit

Limfosit merupakan leukosit mononuklear. Ukurannya bervariasi. Pada pewarnaan wright tidak memiliki granula sitoplasma. Inti limfosit berbentuk bulat atau oval sampai berbentuk tapal kuda (Eroschenko, 2003). Bentuk kromatin inti sarat dengan jala-jala yang berhubungan di dalam (Sylvia & Lorraine, 1995).



Gambar 3.4. Gambaran Histologis Limfosit (diambil dari Eroschenko, 2003)

e. Monosit

Jumlah monosit dalam sirkulasi 5-8% dari jumlah leukosit. Sel ini berukuran besar (16-20 μm), kromatin inti jelas, inti memanjang berlekuk atau terlipat dan sitoplasmanya banyak, berwarna biru keabu-abuan dan tembus pandang (Widmann, 1995).



Gambar 3.5. Gambaran Histologis Monosit (diambil dari Eroschenko, 2003)

3. Variabel Perancu

a. Dapat dikendalikan

- 1) Makanan tikus putih berupa makanan standar (BR I) yang diberikan dua kali sehari, setiap pagi dan sore.
- 2) Variasi genetik subjek penelitian dipersempit dengan penggunaan spesies hewan coba yang sama, yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar.
- 3) Jenis kelamin tikus putih adalah jantan.
- 4) Umur tikus putih yang menjadi kriteria inklusi adalah empat sampai enam minggu.
- 5) Berat badan tikus putih yang digunakan adalah 200 gram.

b. Tidak dapat dikendalikan

Variasi kepekaan tikus putih terhadap suatu zat.

H. Induksi Hewan Coba Model Sepsis

Cara menginduksi hewan coba model sepsis dalam penelitian ini digunakan *cecal inoculum* dimana agen penyebab sepsis berasal dari fokus infeksi polimikrobial dalam rongga abdomen diikuti oleh translokasi bakteri ke dalam kompartemen darah yang kemudian memicu respon inflamasi sistemik (SIRS).

Cecal inoculum dibuat baru setiap hari dari tikus putih donor yang dikorbankan dengan mensuspensikan 200 mg material *cecal* pada 5 mL *dextrose water* 5% (D₅W) steril (Brahmbhatt *et al.*, 2005). Pada penelitian Chopra & Sharma (2007) hewan coba diinjeksi *cecal inoculum* 5 mL/kg BB

secara intraperitoneal. Pada penelitian ini hewan coba tikus putih dengan berat badan 200 gram diinjeksi *cecal inoculum* 40 mg/tikus putih yang diberikan dalam 1 mL D₅W steril, dengan perhitungan sebagai berikut:

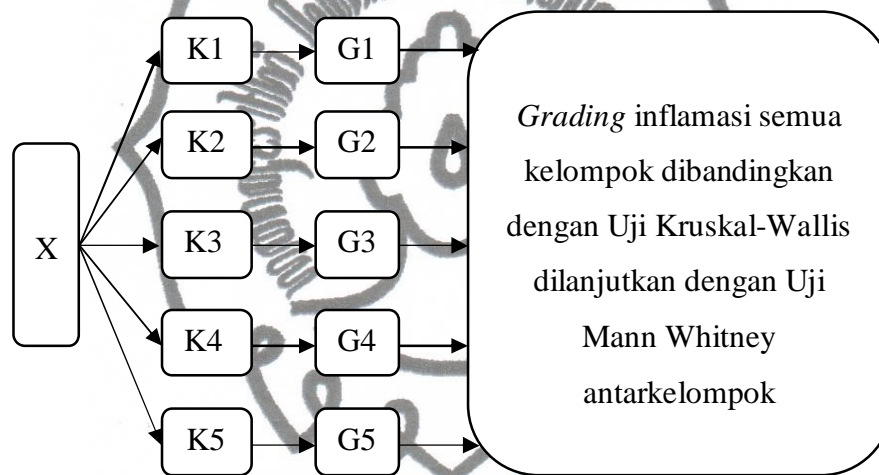
$$\frac{5 \text{ mL}}{1000 \text{ gr}} = \frac{v}{200 \text{ gr}}$$

$$\frac{200 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} = \frac{x}{1 \text{ mL}}$$

$$v = \frac{5 \text{ mL} \times 200 \text{ gr}}{1000 \text{ g}} = 1 \text{ mL}$$

$$x = \frac{200 \text{ mg} \times 1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} = 40 \text{ mg}$$

I. Rancangan Penelitian



Gambar 3.6. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

X : Jumlah tikus putih yang digunakan

K1: Kelompok kontrol

K2: Kelompok sepsis

K3: Kelompok sepsis + propolis dosis 100 mg/kg BB/hari/oral

K4: Kelompok sepsis + propolis dosis 200 mg/kg BB/hari/oral

K5: Kelompok sepsis + cefepime 80 mg/kg BB/hari/i.p.

G1: Grading inflamasi kelompok kontrol

G2: *Grading* inflamasi kelompok sepsis

G3: *Grading* inflamasi kelompok sepsis + propolis 100 mg/kg BB/hari/oral

G4: *Grading* inflamasi kelompok sepsis + propolis 200 mg/kg BB/hari/oral

G5: *Grading* inflamasi kelompok sepsis + cefepime 80 mg/kg BB/hari/i.p.

J. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat penelitian

- a. Kandang hewan penelitian
- b. Timbangan
- c. *Sprit* injeksi
- d. Sonde
- e. *Beaker glass*
- f. *Minor set*
- g. Pipet ukur
- h. Mikroskop cahaya
- i. Alat-alat pembuatan preparat histologis

2. Bahan penelitian

- a. Bahan perlakuan: hewan uji (40 ekor tikus putih), material *cecal* tikus putih donor, propolis, aquabides, *dextrose water* 5% steril, alkohol, makanan standar hewan uji (BR I).
- b. Bahan pembuatan preparat: organ intestinal tikus putih setelah perlakuan dan organ intestinal tikus putih kontrol, formalin 10%, alkohol 96%, toluol, xylol, parafin, pewarna Hematoksilin-Eosin, aquades.

K. Cara Kerja

1. Sebelum Perlakuan

- a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi laboratorium tempat penelitian selama kurang lebih satu minggu.
- b. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi lima kelompok. Masing-masing kelompok terdiri atas delapan ekor tikus putih.

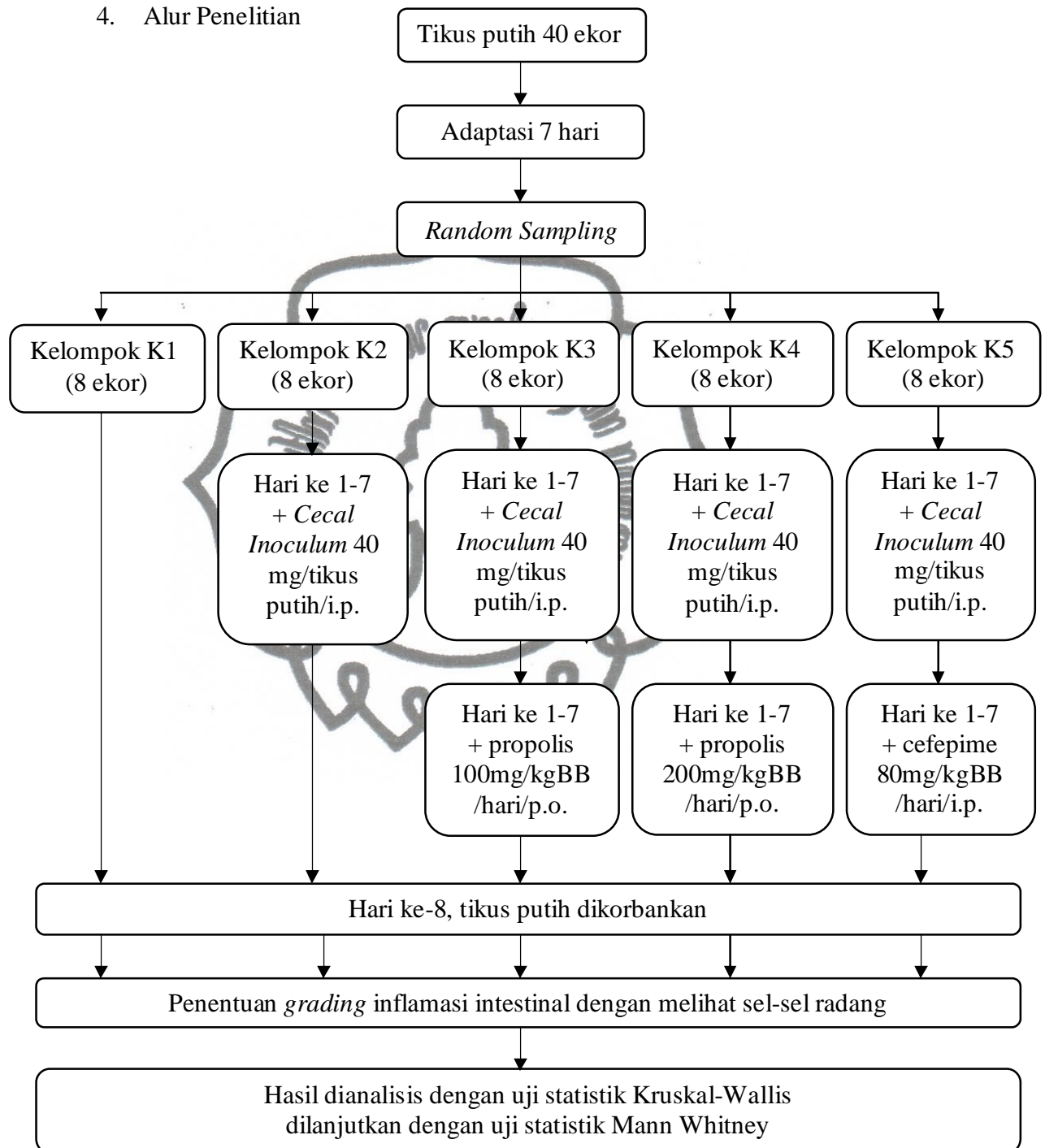
2. Pemberian Perlakuan

Hewan coba model sepsis pada penelitian ini digunakan model *cecal inoculum* setiap hari sampai hari ke tujuh. Masing-masing kelompok diberi diet standar dan diberi perlakuan yang berbeda.

3. Setelah Perlakuan

Pada hari ke delapan, tikus putih dikorbankan untuk kemudian diambil intestinalnya, lalu dibuat preparat histologis menggunakan pewarnaan Hematoksilin-Eosin untuk menentukan *grading* inflamasinya.

4. Alur Penelitian



Gambar 3.7. Skema alur penelitian

L. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan menggunakan uji statistik nonparametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Uji Kruskal-Wallis merupakan analisis varian satu arah berdasarkan peringkat pada data skala ordinal. Uji ini untuk mengetahui adanya perbedaan dalam seluruh kelompok populasi. Hasil yang diharapkan adalah adanya perbedaan yang bermakna pada gambaran histologis intestinal kelompok K1, K2, K3, K4 dan K5.

Uji Mann-Whitney merupakan uji nonparametrik untuk menilai dua sampel independen pada distribusi yang sama. Uji ini untuk mengetahui letak adanya perbedaan dalam populasi. Hasil yang diharapkan adalah mengetahui antara kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna.

Data akan diolah dengan menggunakan *software* program *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) 17.0 for Windows sehingga akan diperoleh nilai dari uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian

Tikus putih dikorbankan dengan cara dislokasi servikal. Kemudian preparat intestinal dari masing-masing tikus putih dibuat menggunakan pengecatan Hematoksilin Eosin. Tiap kelompok dibuat delapan gambaran histologis intestinal. Preparat diamati dengan mikroskop cahaya menggunakan perbesaran 1000 kali. Masing-masing intestinal dinilai derajat inflamasinya menggunakan sistem *grading* modifikasi (Chang *et al.*, 2006). Data hasil pengamatan mikroskopis terhadap derajat inflamasi intestinal pada kelompok kontrol (K1), kelompok sepsis (K2), kelompok sepsis + propolis 100 mg (K3), kelompok sepsis + propolis 200 mg (K4), dan kelompok sepsis + cefepime 80 mg dapat dilihat pada tabel 4.1.

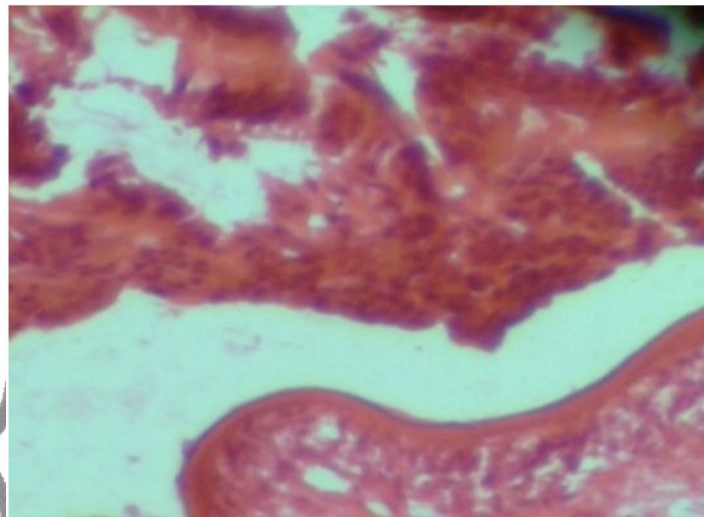
Tabel 4.1. Jumlah dan Prosentase Derajat Inflamasi Intestinal pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan

Grade	K1		K2		K3		K4		K5	
	Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%	Σ	%
0	2	25	0	0	0	0	0	0	1	12,5
1	4	50	0	0	3	37,5	2	25	4	50
2	2	25	0	0	3	37,5	1	12,5	3	37,5
3	0	0	3	37,5	2	25	5	62,5	0	0
4	0	0	5	62,5	0	0	0	0	0	0

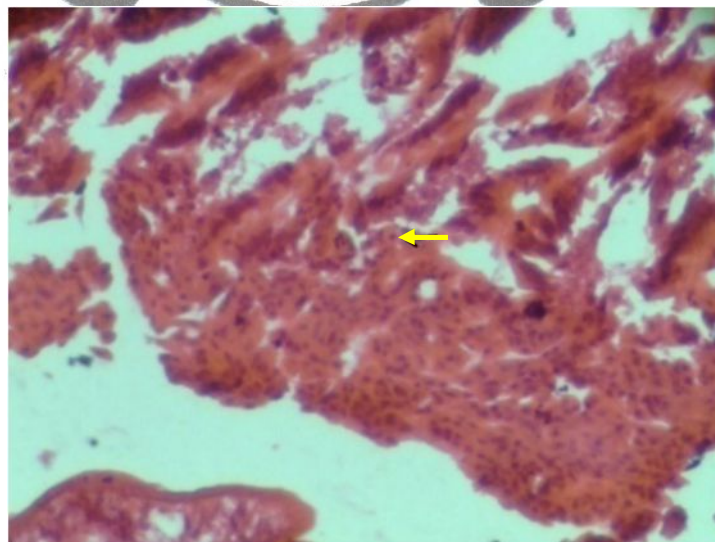
(Sumber: data primer, 2011)

Gambaran hasil pengamatan mikroskopis derajat inflamasi intestinal pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada gambar 4.1, gambar 4.2, gambar 4.3, gambar 4.4, dan gambar 4.5.

Kelompok K1 terdapat *grade* 0 sebanyak dua preparat, *grade* 1 sebanyak empat preparat, dan *grade* 2 sebanyak dua preparat. Gambaran histologis intestinal kelompok K1 dengan perbesaran 1000 kali sebagai berikut:

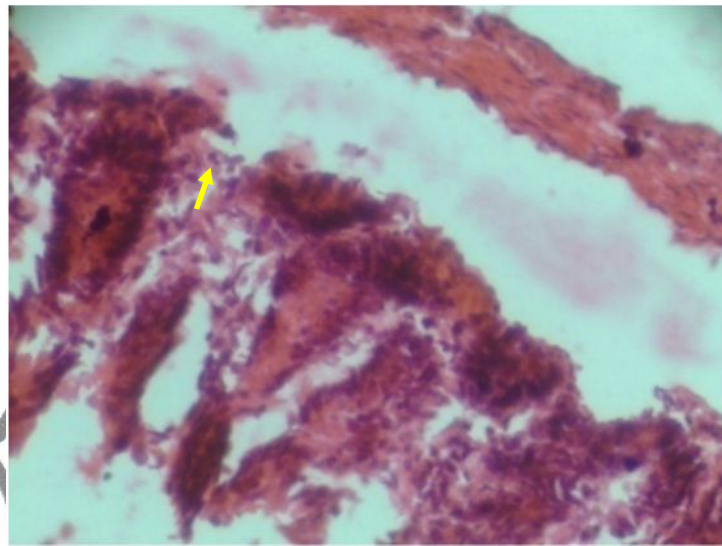


Gambar 4.1. Gambaran Histologis Intestinal Grade 0 pada Kelompok K1
Keterangan: tidak ditemukan infiltrasi sel radang

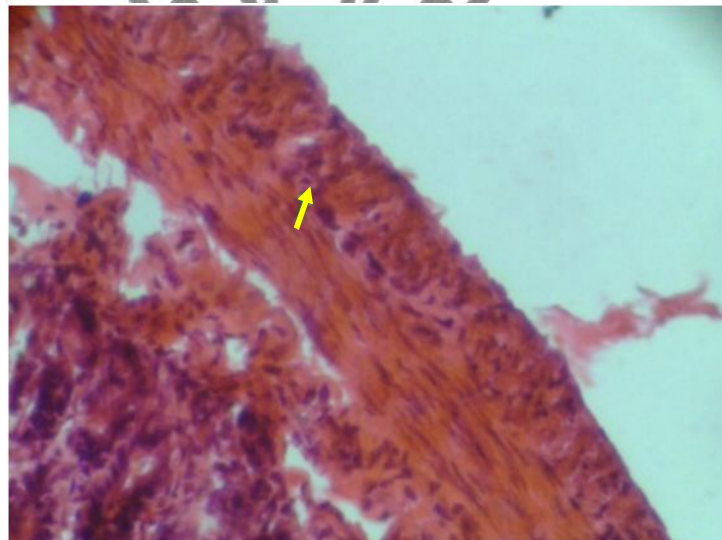


Gambar 4.2. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K1
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa, ditunjukkan dengan arah panah

Kelompok K2 terdapat *grade* 3 sebanyak tiga preparat dan *grade* 4 sebanyak lima preparat. Gambaran histologis intestinal kelompok K2 dengan perbesaran 1000 kali sebagai berikut:

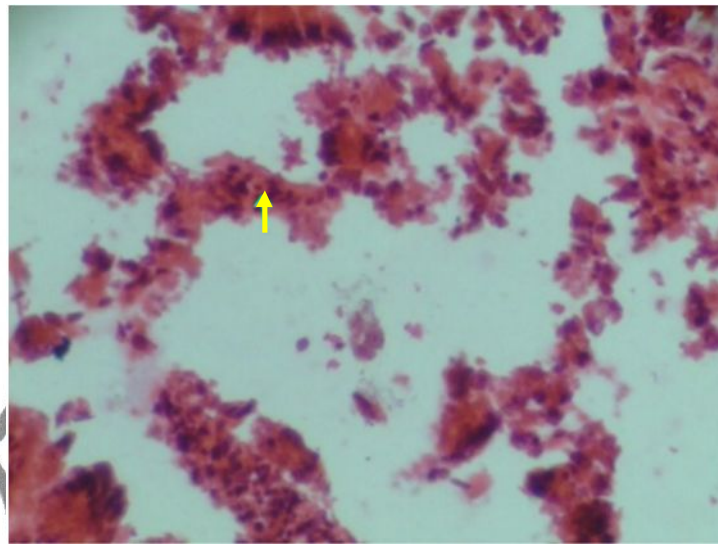


Gambar 4.3. Gambaran Histologis Intestinal Grade 3 pada Kelompok K2
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan submukosa, ditunjukkan dengan arah panah

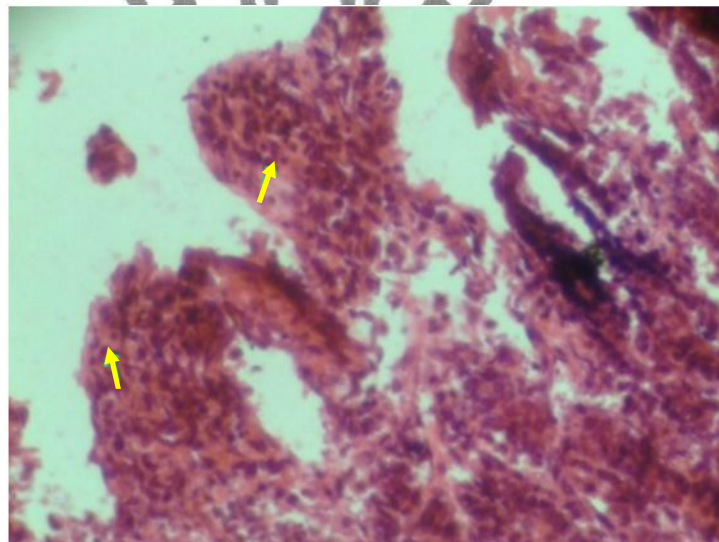


Gambar 4.4. Gambaran Histologis Intestinal Grade 4 pada Kelompok K2
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan muskularis, ditunjukkan dengan arah panah

Kelompok K3 terdapat *grade* 1 sebanyak tiga preparat, *grade* 2 sebanyak tiga preparat, dan *grade* 3 sebanyak dua preparat. Gambaran histologis intestinal kelompok K3 dengan perbesaran 1000 kali sebagai berikut:

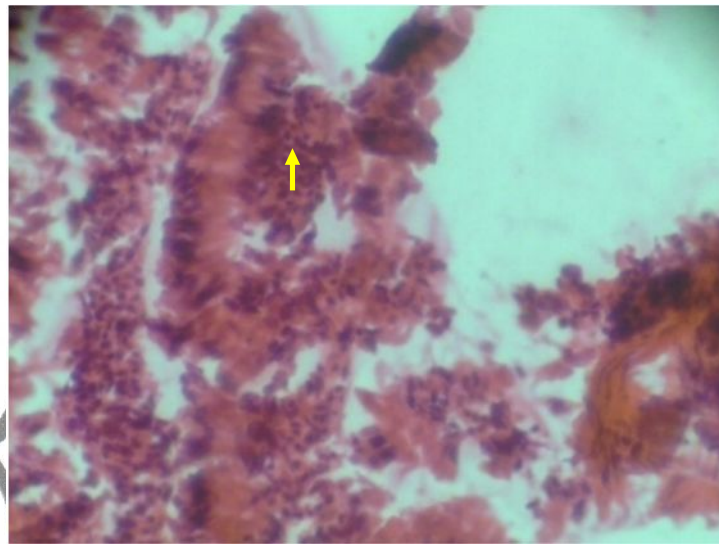


Gambar 4.5. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K3
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa, ditunjukkan dengan arah panah

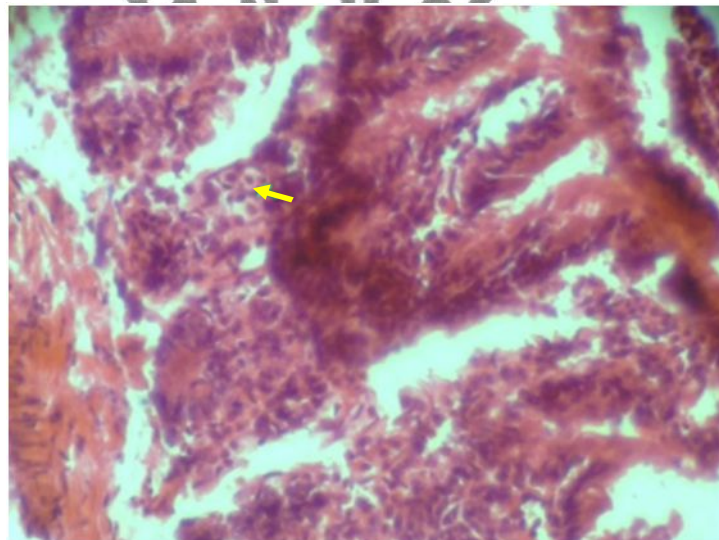


Gambar 4.6. Gambaran Histologis Intestinal Grade 2 pada Kelompok K3
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa dan sedikit infiltrasi ke lapisan submukosa, ditunjukkan dengan arah panah

Kelompok K4 terdapat *grade* 1 sebanyak dua preparat, *grade* 2 sebanyak satu preparat, dan *grade* 3 sebanyak lima preparat. Gambaran histologis intestinal kelompok K4 dengan perbesaran 1000 kali sebagai berikut:

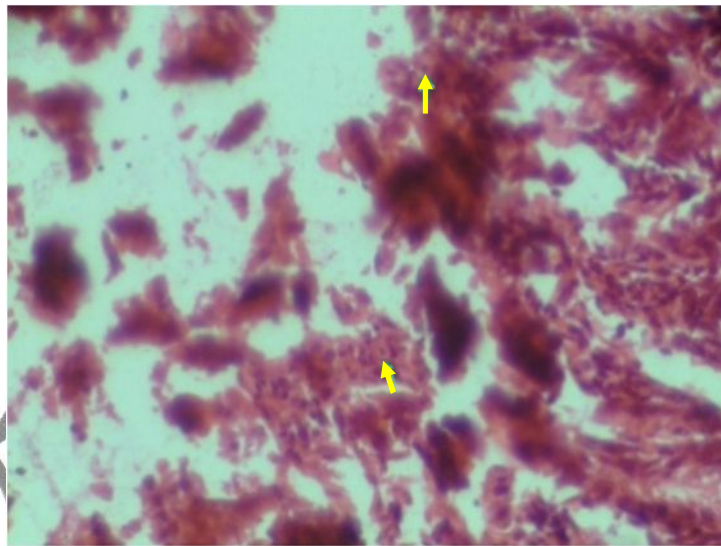


Gambar 4.7. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K4
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa, ditunjukkan dengan arah panah

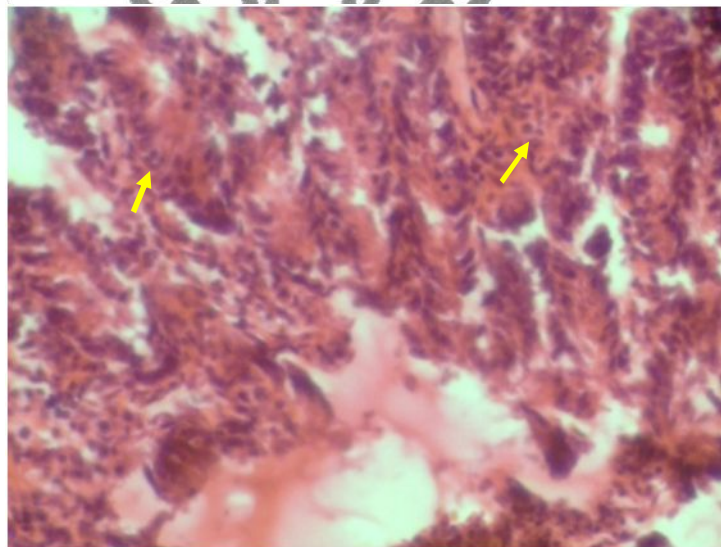


Gambar 4.8. Gambaran Histologis Intestinal Grade 3 pada Kelompok K4
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan submukosa, ditunjukkan dengan arah panah

Kelompok K5 terdapat *grade* 0 sebanyak satu preparat, *grade* 1 sebanyak empat preparat, dan *grade* 2 sebanyak tiga preparat. Gambaran histologis intestinal kelompok K5 dengan perbesaran 1000 kali sebagai berikut:



Gambar 4.9. Gambaran Histologis Intestinal Grade 1 pada Kelompok K5
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa, ditunjukkan dengan arah panah



Gambar 4.10. Gambaran Histologis Intestinal Grade 2 pada Kelompok K5
Keterangan: infiltrasi sel radang sampai ke lapisan epitel mukosa dan sedikit infiltrasi ke lapisan submukosa, ditunjukkan dengan arah panah

B. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rerata lebih dari dua kelompok dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney ($\alpha = 0.05$) menggunakan program SPSS 17.0 for Windows.

Hasil perhitungan statistik dengan uji Kruskal-Wallis menunjukkan nilai $p < 0,05$ yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan antara lima kelompok perlakuan.

Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan, maka dilakukan analisis dengan *Post Hoc Test* yaitu uji Mann-Whitney. Dari hasil uji Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$), didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 dengan K2, K1 dengan K4, K2 dengan K3, K2 dengan K4, K2 dengan K5, dan K4 dengan K5. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai $p < 0,05$ (tabel 4.2).

Tabel 4.2. Hasil Uji Statistik Mann-Whitney Antarkelompok

Kelompok Perlakuan	p value	Keterangan
K1 dengan K2	0.001	Signifikan
K1 dengan K3	0.058	Tidak signifikan
K1 dengan K4	0.011	Signifikan
K1 dengan K5	0.492	Tidak signifikan
K2 dengan K3	0.002	Signifikan
K2 dengan K4	0.005	Signifikan
K2 dengan K5	0.001	Signifikan
K3 dengan K4	0.238	Tidak signifikan
K3 dengan K5	0.158	Tidak signifikan
K4 dengan K5	0.024	Signifikan

(Sumber: data primer, 2011)

BAB V

PEMBAHASAN

Sepsis menurut Guntur (2008) adalah suatu sindroma klinik yang terjadi karena adanya respon tubuh yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme yang ditandai dengan: hipertermia atau hipotermia, takipnea, takikardia, leukositosis, leukopenia, dengan atau tanpa ditemukan bakteremia.

Menurut Russell (2006) patofisiologi sepsis sangat kompleks akibat dari interaksi antara proses infeksi kuman patogen, inflamasi, dan jalur koagulasi yang dikarakteristikan sebagai ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi (seperti TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , dan IL-6) dengan sitokin antiinflamasi (seperti IL-4 dan IL-10). Berdasarkan Elena *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 sehingga menyebabkan nekrosis jaringan, MOF, serta kematian.

Penelitian ini menggunakan propolis sebagai bahan uji. Propolis berfungsi sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Propolis juga meningkatkan efek sitotoksitas dari *NK-cell* dan mampu menstimulasi produksi antibodi. Sehingga pemberian EEP mampu mencegah terjadinya inflamasi traktus gastrointestinal dan dapat mencegah terjadinya sepsis.

Kelompok K1 menunjukkan gambaran histologis intestinal yang normal (*grade 0*) sebanyak dua preparat, empat preparat kelompok K1 menunjukkan

gambaran histologis intestinal dengan *grade* 1, dan dua preparat kelompok K1 yang lainnya menunjukkan gambaran histologis intestinal dengan *grade* 2. Adanya gambaran histologis intestinal dengan *grade* 1 dan *grade* 2 mungkin karena terdapat variabel luar yang tidak dapat dikendalikan seperti kepekaan tikus terhadap suatu zat, kondisi psikologis tikus, maupun kondisi awal intestinal tikus.

Pemberian material *cecal inoculum* pada kelompok K2 menyebabkan meningkatnya derajat inflamasi intestinal tikus secara bermakna (Tabel 4.2). Sebanyak lima preparat menunjukkan gambaran histologis intestinal dengan *grade* 4 (Tabel 4.1). Hal ini sesuai dengan protokol pembuatan model sepsis oleh Chopra dan Sharma (2007). Injeksi *cecal inoculum* menggambarkan keadaan klinis peritonitis yang disebabkan infeksi polimikroba, adanya infeksi kuman patogen tersebut pada subjek penelitian merupakan patofisiologi kompleks dari sepsis. Pada hewan coba juga terdapat piloereksi. Menurut Alscher *et al.* (2001) dan Jurgen *et al.* (2006) bahwa proses patologik yang utama pada sepsis adalah apoptosis dari saluran pencernaan, termasuk intestinal. Proses ini menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa intestinal, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan translokasi toksinnya ke dalam sirkulasi darah serta pelepasan sitokin inflamasi yang berlebihan seperti TNF- α , IFN- γ , IL-1 β dan IL-6 yang merupakan tanda reaksi inflamasi.

Pemberian EEP dosis 100 mg/kg BB (kelompok K3) dapat menurunkan derajat inflamasi intestinal secara signifikan (tabel 4.2). Kelompok ini memperlihatkan *grade* 1 (tiga preparat), *grade* 2 (tiga preparat) dan *grade* 3 (dua

preparat) (Tabel 4.1). Hasil ini sesuai dengan teori yang diungkapkan oleh Takaisi-Kikuni dan Schilcher dalam Sabir (2005) yang menyatakan bahwa EEP menyebabkan terjadinya disorganisasi dari sitoplasma, membran sitoplasmik, serta dinding sel yang semuanya mengakibatkan bakteriolisis parsial dan penghambatan sintesis protein sehingga bersifat antibakteri.

Berdasarkan Ang *et al.* (2009) dan Marquez *et al.* (2004), kandungan CAPE dalam propolis mampu menghambat aktivitas pengikatan DNA dan transkripsi NF- κ B serta faktor transkripsi NFAT, dan AP-1, tanpa mempengaruhi degradasi protein penghambat NF- κ B yang berada di sitoplasma. Sehingga propolis memiliki aktivitas sebagai imunomodulator dan antiinflamasi.

Menurut De Castro (2001) dan Orsi *et al.* (2000) propolis akan menstimulasi fagositosis oleh makrofag serta menurunkan produksi sitokin TNF- α , selain itu propolis juga mampu menghambat komplemen, baik jalur klasik maupun jalur alternatif. Propolis juga meningkatkan sitotoksitas dari *NK-cell* dan menstimulasi produksi antibodi. Sehingga propolis berfungsi sebagai imunomodulator.

Kumuzawa *et al.* (2004) menyatakan bahwa propolis juga dapat berfungsi sebagai antioksidan kuat, yang dapat mencegah timbulnya senyawa-senyawa radikal bebas dimana pada sepsis banyak terjadi peningkatan produk radikal bebas (ROS) sehingga propolis bermanfaat dalam penatalaksanaan sepsis. Propolis juga berfungsi sebagai penetral racun karena berbagai kandungan di dalam propolis dapat membersihkan polutan dan racun di dalam tubuh, sehingga metabolisme sel dapat berlangsung optimal kembali. Mekanisme-mekanisme tersebut

menyebabkan terhambatnya apoptosis sel epitel intestinal yang berpengaruh pada menurunnya derajat inflamasi intestinal.

Pemberian EEP dosis 200 mg/kg BB (kelompok K4) juga dapat menurunkan derajat inflamasi intestinal bila dibandingkan dengan kelompok K2 (tabel 4.2). Kelompok ini memperlihatkan *grade* 1 (dua preparat), *grade* 2 (satu preparat) dan *grade* 3 (lima preparat) (Tabel 4.1). Bila dibandingkan dengan kelompok K3 yang diberi propolis dosis 100 mg/kg BB, kelompok K3 memberikan hasil yang lebih baik dibanding kelompok K4. Hal ini mungkin disebabkan karena dosis 200 mg/kg BB sudah kurang optimal untuk penatalaksanaan sepsis sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis optimal propolis.

Pemberian antibiotik cefepime 80 mg/kg BB (kelompok K5) mampu menurunkan derajat inflamasi intestinal secara signifikan (tabel 4.2). Kelompok ini memperlihatkan *grade* 0 (satu preparat), *grade* 1 (empat preparat), dan *grade* 2 (tiga preparat) (Tabel 4.1). Menurut Yunus (2010) cefepime merupakan sefalosporin generasi empat yang mempunyai struktur kimia yang dapat mempercepat penetrasinya ke dinding sel bakteri. Cefepime mempunyai spektrum yang luas, lebih stabil terhadap enzim beta laktamase sehingga mempunyai potensi untuk mengatasi bakteri patogen yang telah resisten terhadap sefalosporin generasi sebelumnya. Cefepime menghambat sintesis dinding sel bakteri, dan berefek bakterisidal (membunuh bakteri). Efektivitas cefepime telah teruji secara klinis dan dari segi keamanan, cefepime dapat ditoleransi dengan baik. Oleh karena itu, cefepime digunakan sebagai antibiotik dalam penelitian ini.

Kelemahan pada penelitian ini yaitu adanya perbedaan kekebalan pada tiap tikus serta adanya variabel luar yang tidak dapat dikendalikan seperti kepekaan tikus terhadap suatu zat maupun kondisi awal intestinal tikus sehingga dapat mempengaruhi hasil preparat.



BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol propolis dapat menurunkan derajat inflamasi intestinal tikus putih sepsis induksi *cecal inoculum*.

B. SARAN

Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut dalam pilihan terapi sepsis dengan menggunakan variasi dosis yang lebih rendah karena propolis memiliki kemampuan dalam menurunkan derajat inflamasi intestinal.