

**PERBEDAAN DERAJAT INFLAMASI USUS PADA MENCIT
BALB/C MODEL SEPSIS PAPARAN LIPOPOLISAKARIDA
DENGAN *CECAL INOCULUM***

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Hasnak Nuha Faridah
G 0005013**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2009

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul : **Perbedaan Derajat Inflamasi Usus
pada Mencit Balb/c Model Sepsis Paparan Lipopolisakarida
dengan *Cecal Inoculum***

Hasnak Nuha Faridah, NIM : G 0005013, Tahun : 2009

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan Dewan Penguji Skripsi
Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta
Pada Hari Kamis, Tanggal 7 Mei 2009

Pembimbing Utama

Nama : Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si.
NIP : 132 233 152

Pembimbing Pendamping

Nama : Sri Hartati H, Dra., Apt., SU.
NIP : 130 786 653

Penguji Utama

Nama : RP. Andri Putranto, dr., M. Si.
NIP : 132 140 101

Penguji Pendamping

Nama : Sarsono, Drs., M. Si.
NIP : 131 569 268

Surakarta,

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

**Sri Wahjono, dr., M. Kes
NIP : 030 134 646**

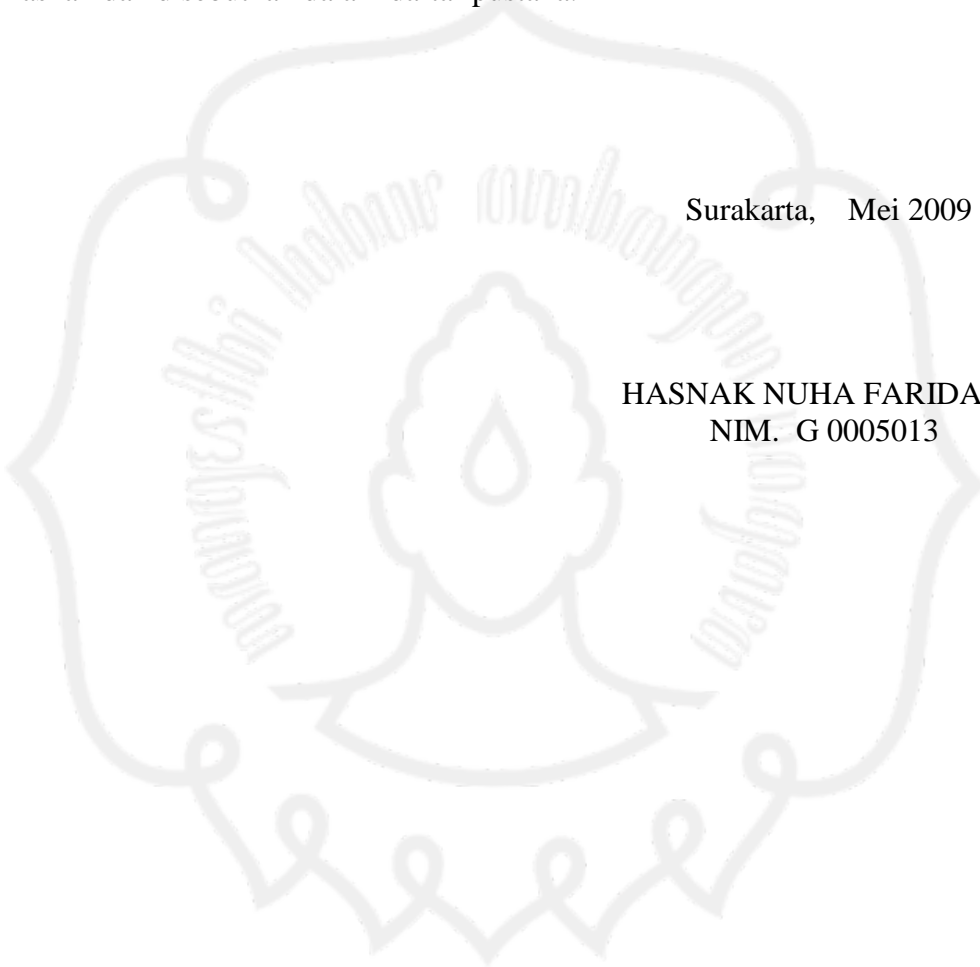
**Prof. Dr. AA. Subijanto, dr., MS
NIP : 030 134 565**

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 saya 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, Mei 2009

HASNAK NUHA FARIDAH
NIM. G 0005013



ABSTRAK

Hasnak Nuha Faridah, G0005013, 2009. Perbedaan Derajat Inflamasi Usus pada Mencit Balb/c Model Sepsis Paparan Lipopolisakarida dengan *Cecal Inoculum*, Skripsi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Model sepsis *cecal inoculum*, dengan prinsip infeksi polimikroba, lebih sesuai dengan masalah klinik dan harganya relatif lebih murah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c model sepsis paparan LPS dibandingkan dengan *cecal inoculum*.

Penelitian bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*. Subjek penelitian berupa 18 ekor mencit Balb/c jantan dengan berat badan \pm 25-30 gram, berumur 4-6 minggu. Mencit Balb/c dibagi 3 kelompok, masing-masing 6 ekor. Kelompok K sebagai kontrol. Kelompok perlakuan 1 (P1) diberi lipopolisakarida 0,1 mL/mencit/*i.p.* Kelompok perlakuan 2 (P2) diberi *cecal inoculum* 0,1 mL/mencit/hari/*i.p.* Hari ke-8 semua mencit dikorbankan dan diambil ususnya, kemudian diperiksa gambaran histologisnya dengan pengecatan HE untuk dianalisis *grading* inflamasi. Data dianalisis menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis*, dilanjutkan *Mann-Whitney*, menggunakan program *SPSS for Windows Release 16*. Perbedaan signifikan bila $p < 0,05$.

Hasil derajat inflamasi mukosa usus pada kelompok K terlihat *grade* 0 (83,33%) dan *grade* 1 (16,67%). Kelompok P1 terlihat *grade* 3 (72,22%) dan *grade* 4 (27,78%). Sedangkan kelompok P2 terlihat *grade* 2 (5,56%), *grade* 3 (61,11%), dan *grade* 4 (33,33%).

Uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikan 0,000 dan uji *Mann-Whitney* antara P1-P2 diperoleh nilai signifikan 0,923. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dengan dosis yang sama, *cecal inoculum* mampu menaikkan derajat inflamasi usus yang sebanding dengan paparan LPS.

Kata kunci : sepsis, lipopolisakarida, *cecal inoculum*.

ABSTRACT

Hasnak Nuha Faridah, G0005013, 2009. The Difference on Grading Inflammation of Intestinal between Sepsis Model Lipopolysaccharide and Cecal Inoculation in Balb/c Mice, School of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

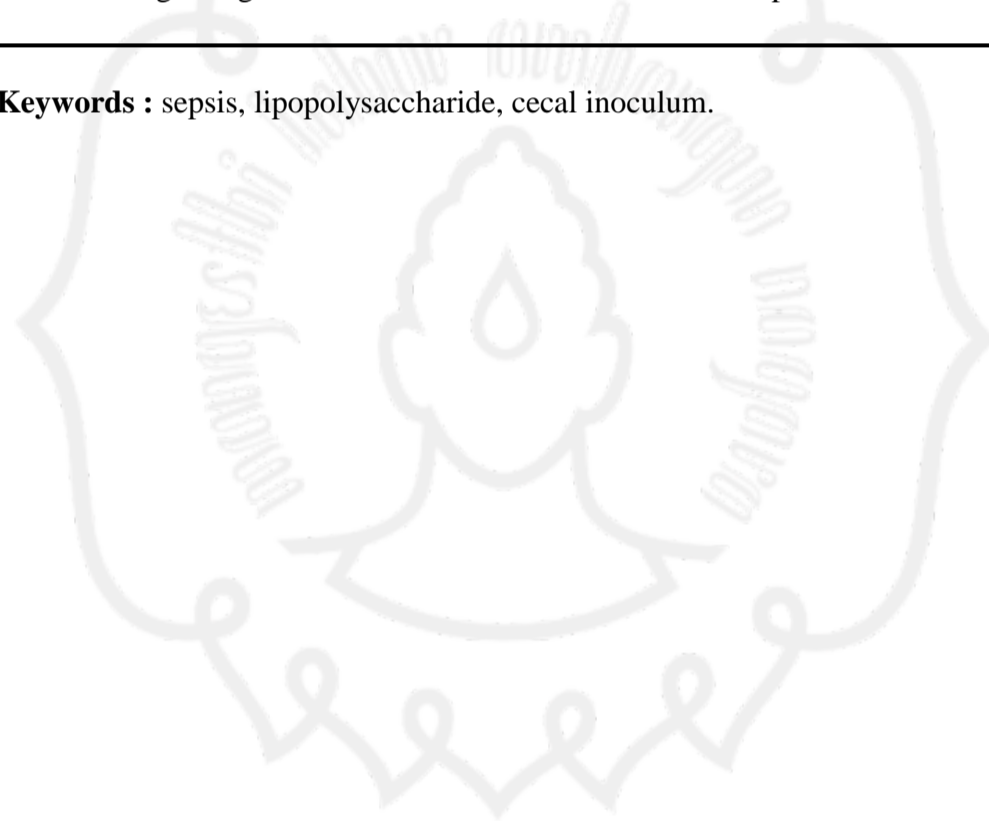
Background. Sepsis model with cecal inoculum, based on the polymicrobial infection is appropriate to the clinical problem and the price is relatively cheaper than lipopolysaccharide (LPS) model. The purpose of this study is to know the difference between sepsis model lipopolysaccharide and cecal inoculation on grading inflammation of intestinal in Balb/c mice

Material and Method. This research is experimental laboratoric with post test only control group design. The subject is 18 male Balb/c mice with weight 25-30 gram, age 4-6 weeks. The subjects are performed in 3 groups, 6 mices each group. All subject get standard diet for 8 days. K group as control. P1 group is given lipopolysaccharide 0,1 mL/mice/i.p. P2 group is given cecal inoculum material 0,1 mL/mice/day/i.p. On day 8, the subjects are sacrificed to take intestine and examine the histopatology by HE staining for analized based on grading inflammation system. Kruskal-Wallis and Mann-Whitney analysis is used to determine significant differences, values of $p < 0.05$ are considered statistically significant.

Results. The grading inflammation of intestinal for K group is grade 0 (83,33%) and grade 1 (16,67%). P1 group is grade 3 (72,22%) and grade 4 (27,78%). While P2 group is grade 2 (5,56%), grade 3 (61,11%) and grade 4 (33,33%). Furthermore, analysis with Kruskal-Wallis found significance 0,000 and with Mann-Whitney between P1 and P2 group found significance 0,923.

Conclusion. By implementing the equal dose, the cecal inoculations are able to increase the grading inflammation in intestinal which is comparable with LPS.

Keywords : sepsis, lipopolysaccharide, cecal inoculum.



PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT yang telah mencurahkan kasih sayang-Nya sehingga penulisan skripsi ini bisa selesai. Skripsi dengan judul **“Perbedaan Derajat Inflamasi Usus pada Mencit Balb/c Model Sepsis Paparan Lipopolisakarida dengan *Cecal Inoculum*”** ini, disusun untuk memenuhi syarat kelulusan sarjana kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. AA. Subijanto, dr., MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
3. Diding Heri Prasetyo, dr., M.Si. selaku pembimbing utama yang telah berkenan meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, pengarahan serta motivasi bagi penulis.
4. Dra. Sri Hartati H, Apt., SU. selaku pembimbing pendamping yang telah berkenan meluangkan waktu, pengarahan serta motivasi.
5. RP. Andri Putranto, dr., M. Si. selaku penguji utama yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta nasihat untuk menyempurnakan kekurangan dalam penulisan skripsi ini.
6. Drs. Sarsono, M. Si. selaku anggota penguji yang telah memberikan waktu, saran dan nasihat untuk memperbaiki kekurangan dalam penulisan skripsi ini.
7. Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta atas segala kerjasama selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, yang turut membantu penyelesaian skripsi ini.

Skripsi ini jauh dari kata baik dan sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan. Penulis berharap semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kemajuan ilmu kedokteran pada khususnya terutama penelitian tentang patofisiologi dan pengobatan sepsis serta bagi pembaca pada umumnya.

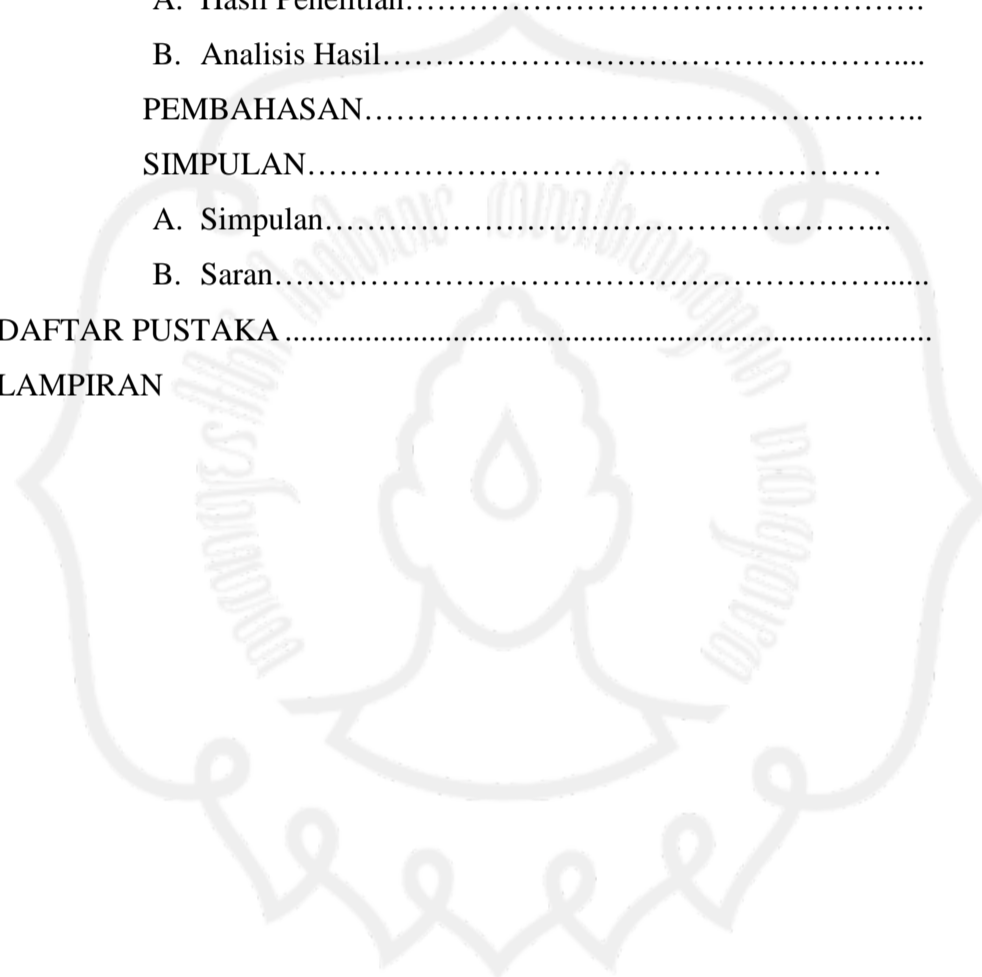
Surakarta, Mei 2009

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
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.	5
sepsis	9
2. Model Sepsis Paparan LPS (Lipopolisakarida).....	10 12
3.	17
odel Sepsis dengan <i>Cecal Inoculum</i>	17
4. Usus Halus.....	18 18
BAB IV	19
. Kerangka Pemikiran	19
1.	19
erangka Pemikiran Konseptual	19
2. Kerangka Pemikiran Teoritis	19 19
3. Hipotesis	20
METODE PENELITIAN.....	20

	A. Jenis Penelitian.....	23
	B. Lokasi Penelitian.....	23
	C. Subyek Penelitian.....	24
	D. Teknik Sampling.....	25
	E. Klasifikasi Variabel.....	26
	F. Skala Variabel.....	27
BAB IV	G. Definisi Operasional Variabel.....	28
	H. Rancangan Penelitian.....	28
	I. Instrumentasi Penelitian.....	33
BAB V	J. Penentuan Dosis.....	34
BAB VI	K. Cara Kerja.....	38
	L. Alur Penelitian.....	38
	M. Analisis Data.....	38
	HASIL PENELITIAN.....	
	A. Hasil Penelitian.....	
	B. Analisis Hasil.....	
	PEMBAHASAN.....	
	SIMPULAN.....	
	A. Simpulan.....	
	B. Saran.....	
	DAFTAR PUSTAKA.....	39
	LAMPIRAN	



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Histologis Usus Pewarnaan Hematoksilin Eosin Perbesaran Lemah	14
Gambar 2.2. Histologis Usus Pewarnaan Hematoksilin Eosin Perbesaran Kuat	14
Gambar 2.3. Kerangka Berpikir Konseptual	17
Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian	23
Gambar 3.2. Skema Alur Penelitian	26
Gambar 4.1. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok K Pengecatan HE, <i>Grade 0</i> Perbesaran 1000x	28
Gambar 4.2. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok K Pengecatan HE, <i>Grade 1</i> Perbesaran 1000x	29
Gambar 4.3. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P1 Pengecatan HE, <i>Grade 3</i> Perbesaran 1000x	29
Gambar 4.4. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P1 Pengecatan HE, <i>Grade 4</i> Perbesaran 1000x	30
Gambar 4.5. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P2 Pengecatan HE, <i>Grade 2</i> Perbesaran 1000x	30
Gambar 4.6. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P2 Pengecatan HE, <i>Grade 3</i> Perbesaran 1000x	31
Gambar 4.7. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P2 Pengecatan HE, <i>Grade 4</i> Perbesaran 1000x	31
Gambar 4.8. Persentase Derajat Inflamasi Usus pada Masing-Masing Kelompok	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1. Jumlah dan Persentase Derajat Inflamasi Usus pada Masing-masing Kelompok	32
Tabel 4.2. Ringkasan Hasil Perhitungan dengan Uji <i>Mann-Whitney</i> ($\alpha=0,05$) pada Masing-masing Kelompok.	33



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran A.** Jadwal Penelitian
- Lampiran B.** Hasil Grading Inflamasi Mukosa Usus pada Masing-Masing Kelompok.
- Lampiran C.** Hasil Uji Analisis *Kruskal-Wallis* dan *Man-Whitney* dengan Program *SPSS For Windows Release 16*
- Lampiran D.** Foto Alat dan Bahan Penelitian
- Lampiran E.** Foto Hasil Kegiatan Penelitian
- Lampiran F.** Tabel Konversi Dosis Manusia dan Hewan
- Lampiran G.** Tabel Daftar Volume Maximal Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sepsis merupakan suatu sindroma klinis yang terjadi oleh karena respon inflamasi sistemik tubuh yang berlebihan terhadap suatu infeksi (Wong dan Kumar, 2006; Arifin dan Guntur, 2008), berupa *Systemic Inflammatory Response Syndrome* (SIRS) terutama pada usus, paru-paru, hati, ginjal dan organ lainnya. Selain itu juga mengakibatkan syok dan *multiple organ failure* (MOF) (Chinnaiyan *et al.*, 2001). Di dalam usus, sepsis menyebabkan hipoperfusi usus

atau intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi serta inflamasi. Derajat inflamasi dapat dilihat dengan adanya infiltrasi sel-sel radang (netrofil, eosinofil, basofil, limfosit dan monosit) dalam lapisan usus (Chang dan Miller, 2006).

Penyebab sepsis adalah bakteri gram negatif (60-70% kasus), bakteri gram positif termasuk *Staphylococci*, *Pneumococci* dan *Streptococci* (20-40% kasus). Sedangkan jamur oportunistik, virus (dengue dan herpes) atau protozoa (*Falciparum malariae*) juga dilaporkan dapat menyebabkan sepsis (Guntur, 2008).

Sepsis merupakan sebagian besar penyebab kematian di dunia (Castell, 2006). Angka kematiannya masih tinggi baik di negara maju maupun negara berkembang (Arifin dan Guntur, 2008). Di USA mortalitas karena sepsis dilaporkan lebih dari 28% kasus, sedangkan di Jerman 40-60% atau 70.000 kasus pertahunnya. Penelitian di RS Moewardi Surakarta tahun 1997, 130 (97%) dari 135 pasien sepsis meninggal dunia. Di RS Cipto Mangunkusumo tahun 1999, 78,3% (70 dari 92 pasien sepsis) dan tahun 2000 didapatkan 84,4% (135 dari 160 pasien sepsis) (Arifin dan Guntur, 2008).

Sepsis merupakan penyebab tertinggi pada pasien di *Intensive Care Units* (ICU) (Bochud dan Calandra, 2003). Insiden sepsis terus meningkat sebanding dengan peningkatan populasi manusia (Oscar *et al.*, 2006; Shahin *et al.*, 2006). Dengan populasi usia lanjut makin meningkat, meningkatnya infeksi nosokomial dan naiknya angka resistensi terhadap antimikroba, maka diperkirakan insiden dan mortalitas akan terus meningkat (Dolan, 2000). Penelitian yang dilakukan di

USA juga menyebutkan angka kejadian sepsis cenderung naik 8,7% setiap tahunnya (Arifin dan Guntur, 2008).

Pada 30 tahun terakhir ini, dilakukan berbagai studi tentang sepsis dengan biaya tidak sedikit (Garrido *et al.*, 2004). Hasilnya, terlihat kemajuan-kemajuan dalam pemahaman patofisiologi sepsis dan pengobatan-pengobatan baru terhadap sepsis (Vincent *et al.*, 2006). Meskipun demikian, insiden dan mortalitas sepsis terus meningkat (Wong dan Kumar, 2006). Temuan penting dalam penelitian sepsis merupakan dorongan besar untuk melakukan penelitian secara terus-menerus, sehingga dapat membantu menurunkan mortalitas sepsis yang masih tinggi (Vincent *et al.*, 2006).

Banyak cara untuk membuat hewan coba model sepsis, antara lain *endotoxycosis model*, *infus live bacteria intravaskuler*, *bacterial peritonitis*, *peritonitis models*, *cecal ligation and perforation*, *soft tissue infection*, *pneumonia model* dan *meningitis model*. Endotoksin dengan menggunakan lipopolisakarida (LPS) biasanya digunakan pada model sepsis. Endotoksin hanya berasal dari satu komponen yaitu gram negatif, padahal komponen dinding sel lain juga berkontribusi dalam respon inflamasi sistemik (Garrido *et al.*, 2004). Harga sediaan LPS di pasaran mahal yakni berkisar antara Rp 800.000,00 sampai 15.000.000,00 (Sigma-Aldrich Co., 2008).

Model sepsis *cecal inoculum* yaitu dengan injeksi material *cecal* secara *intraperitoneal* (Chopra dan Sharma., 2007). *Cecal inoculum* termasuk dalam *peritonitis model*. Tujuan dari model ini adalah membuat *peritoneal* terkontaminasi dengan polimikrobial, dimana hal ini jelas sekali mirip dengan

masalah di klinik seperti pada appendiksitis dan diverticulitis (Garrido *et al.*, 2004). Biaya yang dibutuhkan relatif lebih murah.

Dari uraian di atas, *cecal inoculum* lebih sesuai dengan masalah klinik dan relatif lebih murah. Oleh karena itu, penulis mencoba melakukan penelitian tentang perbedaan model sepsis paparan LPS dengan *cecal inoculum*. Penelitian ini difokuskan untuk mengetahui adakah perbedaan derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c.

B. Perumusan Masalah

Adakah perbedaan derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c model sepsis paparan LPS dibandingkan dengan *cecal inoculum*?

C. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui perbedaan derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c model sepsis paparan LPS dibandingkan dengan *cecal inoculum*.

D. Manfaat Penelitian

1. Aspek Teoritis

Penelitian ini dapat memberikan informasi ilmiah yang mendukung perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya model sepsis. Selain itu dapat memberi gambaran mengenai perbedaan derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c model sepsis paparan LPS dengan *cecal inoculum*.

2. Aspek Aplikatif

- a. Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar bagi tahap penelitian lebih lanjut mengenai model sepsis dengan polimikrobial yang murah.

- b. Dengan ditemukannya model sepsis dengan polimikrobia yang murah, maka bisa lebih diupayakan penelitian-penelitian lebih lanjut dalam menggali patogenesis maupun terapi sepsis dan pada akhirnya dapat menekan morbiditas dan mortalitas akibat sepsis.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Sepsis

Infeksi adalah istilah untuk menamakan keberadaan berbagai kuman yang masuk ke dalam tubuh manusia. Bila kuman berkembang biak dan menyebabkan kerusakan jaringan, maka disebut penyakit infeksi. Pada penyakit infeksi terjadi jejas sehingga timbulah reaksi inflamasi (Guntur, 2008).

Inflamasi adalah reaksi jaringan vaskuler terhadap semua bentuk jejas. Pada dasarnya inflamasi adalah suatu reaksi pembuluh darah, saraf, cairan dan sel tubuh di tempat jejas. Meskipun jenis jaringan yang mengalami inflamasi berbeda, mediator yang dilepaskan sama. Manifestasi klinik yang berupa inflamasi sistemik disebut SIRS (Guntur, 2008).

Sepsis adalah SIRS dengan dugaan infeksi, yaitu adanya mikroorganisme patogen atau toksinnya di dalam darah atau jaringan lain (Dorland, 1998; Guntur, 2008). Sepsis merupakan suatu sindroma klinik sebagai manifestasi proses inflamasi imunologik yang terjadi karena adanya respon tubuh (imunitas) yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme (Daniel dan Remick, 2007; James *et al.*, 2006), ditandai dengan takipnea (frekuensi respirasi >20 kali/menit atau P_aCO_2 <32 mmHg), takikardia (frekuensi jantung >100 kali/menit), hipertermia (temperatur axilar tubuh >101⁰F/38.3⁰C) atau hipotermia (temperatur

axilar tubuh $<96.1^{\circ}\text{F}/35.6^{\circ}\text{C}$), leukositosis ($>12.000 \text{ sel}/\text{mm}^3$), leukopenia ($<4000 \text{ sel}/\text{mm}^3$) dengan atau tanpa ditemukannya bakteri dalam darah (Daniel dan Remick, 2007; Guntur, 2008).

Sepsis berat adalah sepsis yang berkaitan dengan disfungsi organ (Routsi *et al.*, 2005), antara lain *Acute Respiratory Distress Syndrome* (ARDS), gagal ginjal akut (produksi urin $<0,5 \text{ mL}/\text{kgBB}/\text{jam}$), asidosis metabolik (pH $<7,30$; serum laktat $>2x$ normal) dan koagulopati akut (Routsi *et al.*, 2005). Syok sepsis merupakan diagnosis klinik sesuai dengan sindroma sepsis disertai dengan hipotensi (tekanan sistolik $<90 \text{ mmHg}$) (Guntur, 2008; Routsi *et al.*, 2005) atau terjadi penurunan tekanan darah diastolik $<40 \text{ mmHg}$ dari tekanan darah sebelumnya (Guntur, 2008).

Sepsis disebabkan oleh mikroorganisme patogenik atau berpotensi patogenik yang secara normal menyerbu jaringan steril, cairan atau rongga-rongga tubuh (Jaimes dan Dennis, 2006). Mikroorganisme tersebut adalah bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus dan parasit (James *et al.*, 2005). Infeksi bakteri gram negatif dominan pada tahun 1960 sampai awal tahun 1970-an. Akan tetapi pada dua dekade akhir ini infeksi gram negatif meningkat dan dinyatakan sebagai 50% penyebab sepsis berat (Bochud dan Calandra, 2003).

Patofisiologi sepsis sangatlah kompleks. Hal ini terjadi akibat interaksi antara proses infeksi patogen, inflamasi dan jalur koagulasi (Jessen *et al.*, 2007). Adanya patogen pertama kali dikenali oleh sel-sel sistem imun alamiah, misalnya makrofag dan sel dendritik yang berada di

jaringan (Calandra dan Roger, 2003). Makrofag merupakan bagian utama dari *innate immunity*, berperan dalam inisiasi respon inflamasi dengan membunuh patogen melalui proses fagositosis. Proses ini akan menghasilkan oksigen sitotoksik, kemokin dan sitokin yang menarik dan mengaktifkan sel imun lain (Rey *et al.*, 2006). Dan dengan adanya sirkulasi granulosit dan monosit, dengan cepat menuju daerah infeksi (Calandra dan Roger, 2003). Proses ini mengatur jalur alternatif komplemen, protein fase akut dan reseptor *germ-line-encoded pattern-recognition*, seperti (CD14) dan *toll-like receptors* (TLRs) (Calandra dan Roger 2003). TLRs adalah molekul yang penting dalam pola pengenalan mikroba pada *innate immunity* (Kaneko *et al.*, 2005).

Sitokin mempunyai peran penting sebagai penguat respon inflamasi dan mengatur respon imunitas seluler dan humoral. Sitokin akan meningkat dalam hitungan menit sampai jam, untuk mengeradikasi patogen invasif (Calandra dan Roger, 2003). Reaksi sistem imun alamiah berupa aktivasi proinflamasi (sistem komplemen) dan bermacam-macam mediator (*tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *interleukin-1* (IL-1), IL-6, komplemen C_{5a}, dll.) mengakibatkan SIRS dan MOF yang progresif. Sitokin proinflamasi antara lain TNF- α , *interferon- γ* (IFN- γ), IL-6, IL-1 β dan IL-12 (Rey *et al.*, 2006). Sebagai kompensasinya, dikeluarkan faktor anti-inflamasi (IL-10, IL-4, IL-1 *receptor antagonist* (IL-1ra), dll.) (Daniel dan Remick, 2007). TNF- α meningkat selama sepsis. Kadar TNF

dihubungkan dengan keparahan sepsis dan tanda klinis yang muncul (Chen *et al.*, 2000).

Pada kasus sepsis, baik pada manusia maupun hewan coba, keduanya terdapat ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi dan anti-inflamasi (Chen *et al.*, 2000). Banyaknya proinflamasi yang tidak terkontrol menyebabkan respon inflamasi (Daniel dan Remick, 2007). Over-produksi sitokin inflamasi menyebabkan injuri pada jaringan secara luas dan aktivasi sistemik. Hal ini akan berakibat pada permeabilitas vaskuler, syok dan menginduksi perubahan metabolik yang dapat meningkatkan nekrosis jaringan. Pada akhirnya terjadi MOF dan kematian (Dolan, 2000; Rey *et al.*, 2006).

Multiple organ failure ditunjukkan sebagai kongesti berat, perdarahan, hiperemia, deposit fibrin, edema, trombosis, akumulasi leukosit pada paru dan saluran cerna, nekrosis hepatosit, iskemia segmental dari kolon dengan daerah nekrosis atau perdarahan (Rey *et al.*, 2006). Selama sepsis berlangsung, sebagian besar limfosit dan sel-sel epitel gastrointestinal mati dengan cara apoptosis (Hotchkiss dan Karl, 2003). Apoptosis adalah suatu kematian sel terprogram yang melalui mekanisme anti-inflamasi dan efek immunosupresi pada sistem imun (Wong *et al.*, 2005).

Beberapa *marker* pada sepsis yaitu *C-reactive protein/CRP* (telah digunakan sebagai *marker* pada infeksi), *procalcitonin/PCT* (merupakan *marker* yang sensitif dan spesifik pada sepsis) dan *lipopolysaccharide-*

binding protein (LBP) (Dolan, 2000; Shahin *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2007).

2. Model Sepsis Paparan LPS (Lipopolisakarida)

Lipopolisakarida atau endotoksin glikoprotein kompleks merupakan komponen utama membran terluar dari bakteri gram negatif (Guntur, 2008; Garrido *et al.*, 2004). Kadar LPS ditemukan lebih dari 75% pada pasien sepsis. Sisanya, kadar endotoksin di serum sering tidak terdeteksi pada sepsis yang perkembangannya lambat dan tidak ada komplikasi (Garrido *et al.*, 2004).

Lipopolisakarida tidak berubah, senyawa yang relatif murni yang dapat disimpan dalam bentuk *lyophilized*. Dosis yang akurat dapat diukur dan diatur seperti bolus atau infus (Garrido *et al.*, 2004). Lipopolisakarida tidak mempunyai sifat toksis, tetapi merangsang mediator inflamasi dari bermacam tipe sel dan bertanggungjawab pada inisiasi proses sepsis (Sumarmi dan Guntur, 2008; Garrido *et al.*, 2004). Mediator inflamasi tersebut antara lain sitokin, nitrat oxide, superoxide, anion dan mediator lipid (Sumarmi dan Guntur, 2008).

Lipopolisakarida tersusun atas rantai O-polysaccharide, cincin gula dan lipid A (asam lemak *lipophilic*) (Giacometti *et al.*, 2002). Struktur lipid A bertanggung jawab terhadap reaksi dalam tubuh penderita (Guntur, 2008). LPS merangsang respon imun dengan menstimulasi sitokin proinflamasi, seperti TNF, IL-1, IL-6, IL-8, *platelet activating factor*,

metabolit asam arakidonat, eritropoietin dan endotelin (Giacometti *et al.*, 2002; Daniel dan Remick 2007; Sumarmi dan Guntur, 2008).

Lipopolisakarida di dalam darah akan berikatan dengan protein darah membentuk LBP (Jessen *et al.*, 2007; Shahin *et al.*, 2006). LBP adalah suatu protein fase akut yang dianggap sebagai petanda suatu infeksi (Shahin *et al.*, 2006). LBP dapat langsung mengaktifkan sistem imun seluler dan humoral, yang dapat menimbulkan perkembangan gejala septikemia (Shahin *et al.*, 2006; Guntur, 2008). TLR4 adalah reseptor *signal* untuk LPS (Kaneko *et al.*, 2005). LBP yang berada dalam darah penderita akan bereaksi dengan makrofag melalui TLRs4 (*Toll Like Receptors* 4) sebagai reseptor transmembran dengan perantaraan reseptor CD 14+ dan makrofag mengekspresikan imunomodulator (Shahin *et al.*, 2006; Guntur, 2008). Makrofag mengeluarkan polipeptida yang disebut TNF, IL-1 dan IL-8 yang merupakan mediator kunci dan sering meningkat sangat tinggi pada penderita *immunocompromise* (IC) yang mengalami sepsis (Guntur, 2008).

3. Model Sepsis dengan *Cecal Inoculum*

Cecal/cecum adalah bagian pertama dari kolon, membentuk kantong yang secara distal melebar ke ileum dan proksimal ke arah kolon. *Inoculum* (jamak: inocula [Latin]) adalah bahan yang dipakai dalam inokulasi, yaitu pemasukan mikroorganisme, bahan infeksi, serum dan substansi lain ke dalam jaringan organisme hidup atau media biakan; pemasukan agen penyakit kedalam individu sehat untuk menimbulkan

bentuk ringan penyakit tersebut yang diikuti dengan imunitas (Dorland, 1998). Tujuan dari model ini adalah membuat *peritoneal* terkontaminasi dengan polimikroba yang jelas sekali mirip dengan masalah di klinik seperti pada appendiksitis dan divertikulitis (Garrido *et al.*, 2004).

Peptidoglikan merupakan komponen dinding sel dari semua kuman. Pemberian infus substansi ini pada binatang akan memberikan gejala mirip pemberian endotoksin. Peptidoglikan diketahui dapat menyebabkan agregasi trombosit. Eksotoksin yang dihasilkan oleh berbagai macam kuman, misalnya *α-haemolisin (S.Aurens)*, *E.Coli haemolisin (E.Coli)* dapat merusak integritas membran sel imun secara langsung (Guntur, 2008).

Eksotoksin, virus dan parasit yang dapat berperan sebagai superantigen setelah difagosit oleh monosit atau makrofag yang berperan sebagai *Antigen Processing Cell* dan kemudian ditampilkan dalam *Antigen Presenting Cell (APC)*. Antigen ini membawa muatan polipeptida spesifik yang berasal dari *Major Histocompatibility Complex (MHC)*. Antigen yang bermuatan peptida MHC kelas II akan berikatan dengan $CD4^+$ (limfosit Th1 dan Th2) (Guntur, 2008).

Sebagai usaha tubuh untuk bereaksi terhadap sepsis maka limfosit T akan mengeluarkan substansi dari Th1 yang berfungsi sebagai imunomodulator yaitu : $IFN-\gamma$, IL-2 dan *granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)*. Limfosit Th-2 akan mengekspresikan IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10. $IFN-\gamma$ merangsang makrofag mengeluarkan IL- 1β

dan TNF- α . IFN- γ , IL-1 β dan TNF- α merupakan sitokin *proinflammatory*, sehingga pada keadaan sepsis terjadi peningkatan kadar IL-1 β dan TNF- α serum penderita (Guntur, 2008).

4. Usus Halus

Dinding usus halus secara umum terdiri dari 4 lapisan utama dari dalam keluar yaitu mukosa, submukosa, muskularis eksterna dan serosa (Gartner dan Hiatt, 2007; Junqueira dan Carneiro, 2005; Lloyd dan Gabe, 2008).

a. Mukosa usus

Mukosa usus halus secara umum terdiri atas 3 lapisan yaitu : epitel kolumnar simpleks, lamina propria dan muskularis mukosa.

1) Epitel kolumnar simpleks

Meliputi villi dan permukaan ruang interviller tersusun atas sel absorpsi superfisial, sel goblet dan sel mikrofold (sel M).

a) Sel absorpsi superfisial : sel kolumnar 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 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 kripte lieberkuhn, 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 berkontraksi 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.

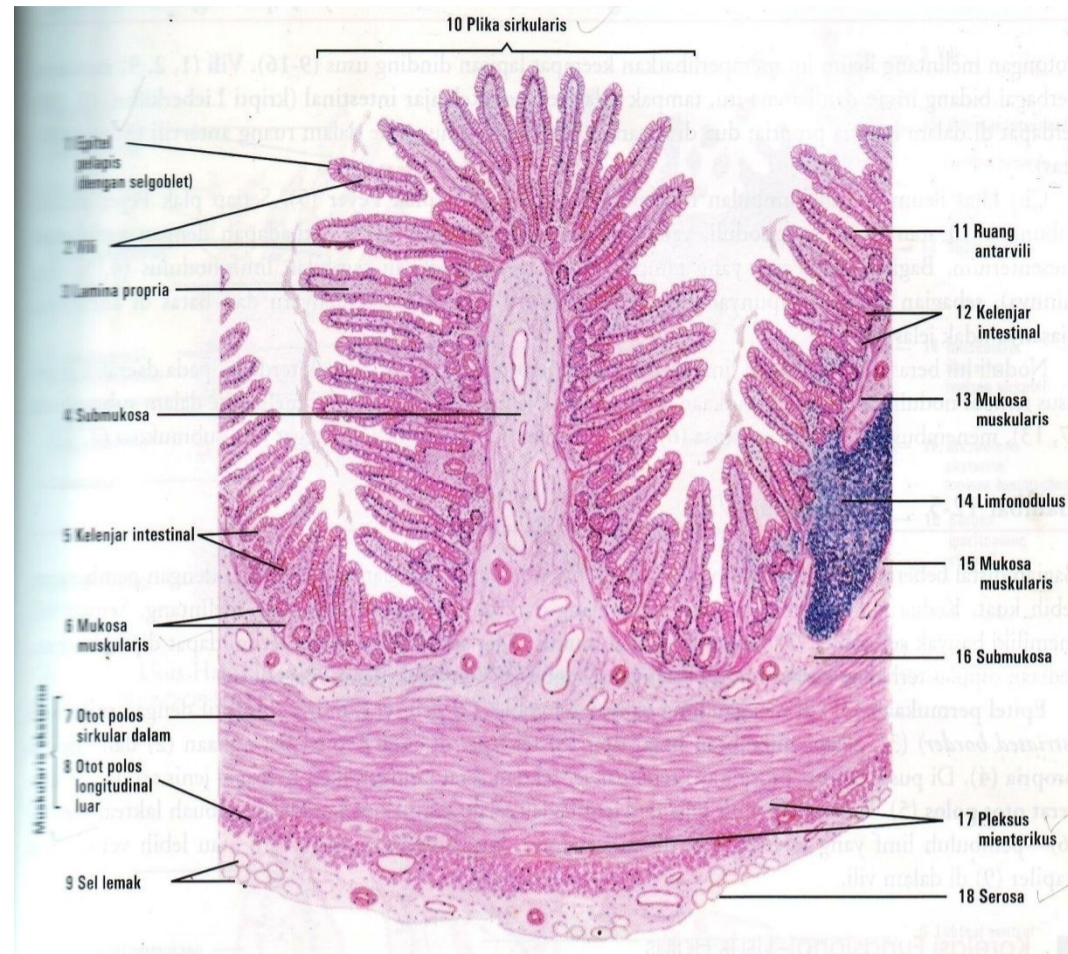
c. Muskularis eksterna

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.

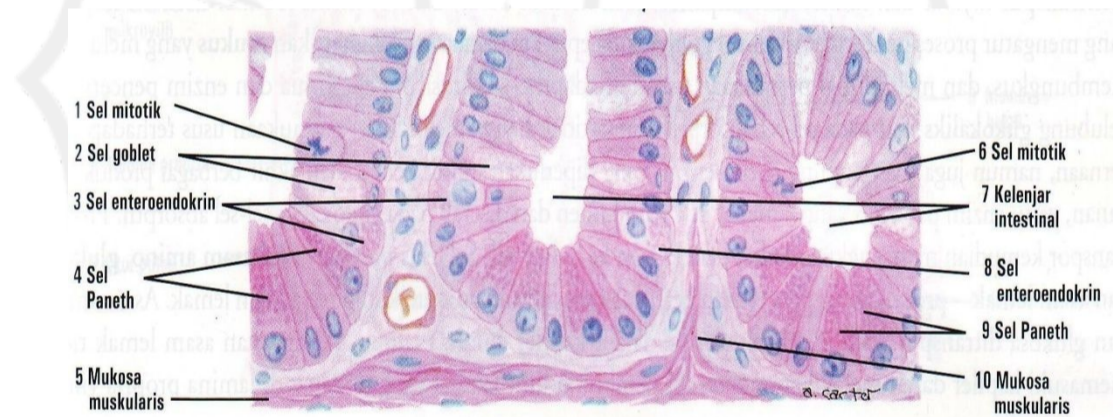
d. Serosa

Merupakan lapisan terluar dinding usus yang terdiri jaringan pengikat longgar.

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



Gambar 2.1. Histologis Usus Pewarnaan Hematoksilin Eosin Perbesaran Lemah



Gambar 2.2. Histologis Usus Pewarnaan Hematoksilin Eosin Perbesaran Kuat

Intestinal merupakan *barrier* paling penting pertahanan dari patogen (Kaneko *et al.*, 2005). Imunitas intestinal dipengaruhi oleh dua faktor yaitu organisme patogenik yang hidup bersamaan dengan organisme komensal di usus (Diding dkk., 2008). Sejumlah faktor akan mengatur respon imun terhadap antigen intestinal. *Gut-Associated Lymphoid Tissue* (GALT) mengandung limfosit intraepitelial, limfosit iLP (intestinal Lamina Propria), Plaque Peyer dan limfonodi mesenterik (Kaneko *et al.*, 2005). Sejumlah antigen intestinal yang ditemui oleh APCs. GALT akan diproses melalui jalur yang berbeda. Sel T dan sel B yang berada di GALT sangat berperan secara langsung terhadap antigen intestinal (Diding dkk., 2008).

Mayoritas permukaan usus halus terdiri dari villi yang dilapisi sel epitel selapis yang terutama berguna untuk absorpsi zat gizi, pemeliharaan keseimbangan elektrolit dan pengeluaran organisme (Diding dkk., 2008). Plaque Peyer adalah area induktif dimana sel B mengalami perubahan menjadi IgA^+B cell dengan bantuan sitokin-sitokin yaitu *transforming growth factor β* (TGF- β) dan IL-5. Setelah ada rangsangan antigen, IgA^+B cell bermigrasi dari Plaque Peyer ke lamina propria melalui sistem vaskuler dan limfatik (Kaneko *et al.*, 2005). Lamina propria adalah area efektor dimana IgA^+B cell menjadi *immunoglobulin A* (Ig A) dan sekitar 80% dari total sel yang memproduksi *immunoglobulin* berada di dalamnya (Kaneko *et al.*, 2005; Diding dkk., 2008). Ig A berperan utama dalam imunitas mukosa dan faktor pertahanan terpenting untuk menghambat invasi patogen (Kaneko *et al.*, 2005).

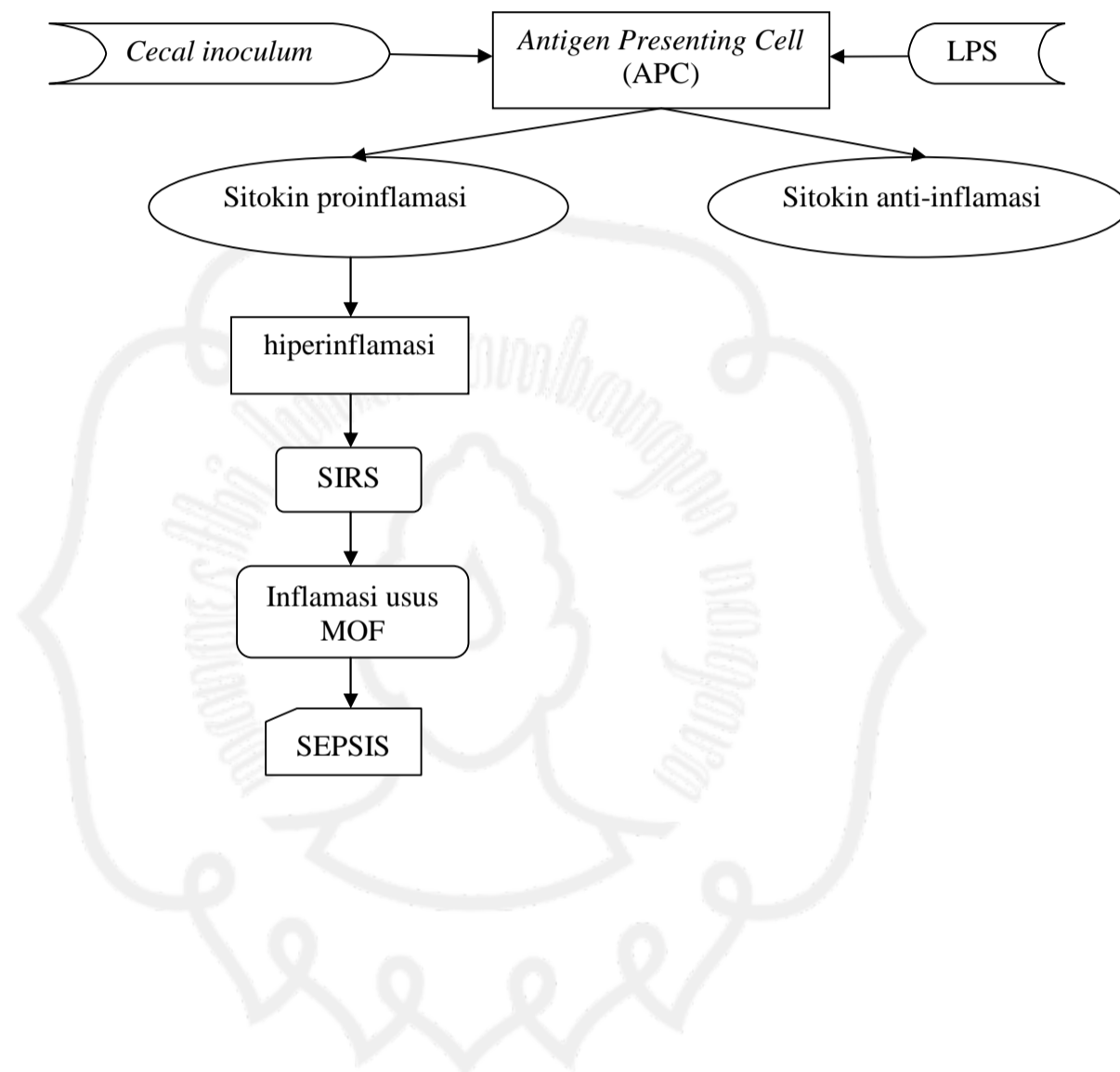
Sel epitel yang berada pada villi usus bertindak sebagai sensor lingkungan lumen usus dan secara *in vitro* sel epitel usus dapat melepaskan sitokin inflamasi sebagai respon terhadap invasi patogen (Diding dkk., 2008). Sel epitel usus mengekspresikan sejumlah reseptor sensorik yang potensial, termasuk TLRs yang berperan dalam respon mukosa terhadap komponen mikroba pada *innate immunity* (Kaneko *et al.*, 2005; Diding dkk., 2008). TLRs mengenali pola-pola spesifik dari komponen-komponen mikrobial seperti glikoprotein, lipoprotein, lipopolisakarida (LPS), glikolipid, peptidoglikan, asam lemak dan asam nukleat yang berasal dari bakteri, virus, parasit maupun jamur. Pada kebanyakan tipe-tipe sel termasuk APCs, aktivasi TLRs akan menginduksi kaskade sinyal transduksi yang akan menghasilkan ekspresi gen imunomodulasi dan inflamasi yang akan melibatkan *innate immunity* maupun *adaptive immunity* (Diding dkk., 2008).

Sejumlah jaringan limfoid mukosa intestinal mempunyai fungsi yang berbeda, di dalam folikel limfoid mukosa terdapat sel M yang mampu mengambil patogen dari lumen usus menuju dendrit yang berada pada sub epitel melalui transportasi transepitelial, hal ini akan memicu terjadinya respon *adaptive immunity* mukosa (Diding dkk., 2008). Adanya sensitisasi antigen maupun mikroorganisme terhadap sel M akan mampu mengakibatkan terekspresikannya TLRs dan TLR4 sebagai *signal* LPS (Kaneko *et al.*, 2005; Diding dkk., 2008).

Enterosit (*intestinal epithelial cells/IEC*) merupakan sel imunokompeten yang berperan pada berbagai reaksi lokal terhadap mikroorganisme patogen. Interaksi enterosit dengan faktor-faktor sekitar akan mengaktivasi ekspresi molekul adhesi, MHC kelas I dan II, presentasi antigen terhadap limfosit, produksi sitokin, transportasi sIg (*secretory immunoglobulins*) dan kompleks sIgA (Diding dkk., 2008).

B. Kerangka Pemikiran

1. Kerangka Berpikir Konseptual

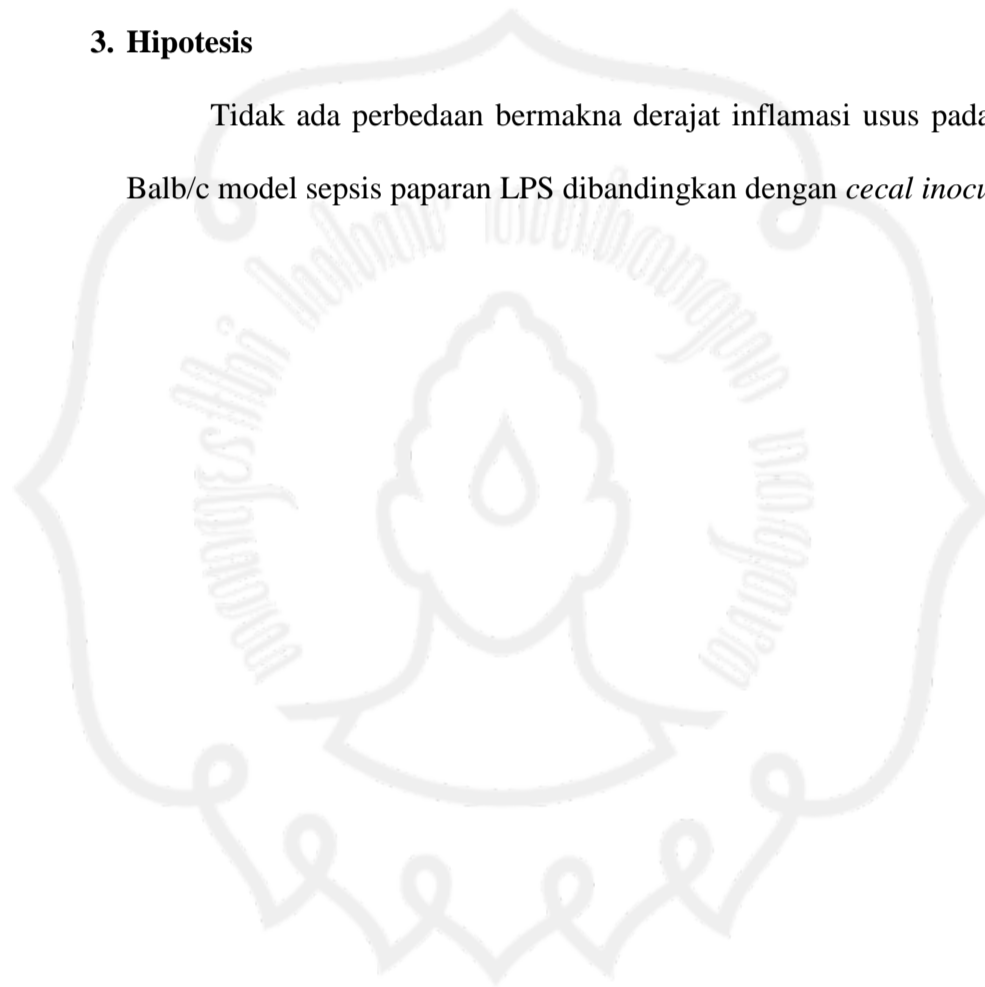


2. Kerangka Berpikir Teoritis

Infeksi polimikroba yang masuk ke dalam tubuh mengaktivasi sel APC kemudian mengekspresikan imunomodulator yang dapat merangsang pembentukan sitokin proinflamasi (Guntur, 2008) sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan IFN- γ dengan anti-inflamasi (IL-1ra, IL-4 dan IL-10 endogen) (Daniel dan Remick, 2007). Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan hiperinflamasi seperti aktivasi respon sistemik berupa SIRS terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus dan organ lainnya (Chinnaiyan, 2001). Inflamasi usus ditentukan dengan adanya infiltrasi sel-sel radang, yaitu netrofil, eosinofil, basofil, limfosit dan monosit (Chang dan Miller, 2006).

3. Hipotesis

Tidak ada perbedaan bermakna derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c model sepsis paparan LPS dibandingkan dengan *cecal inoculum*.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

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

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subyek Penelitian

Subjek penelitian berupa 18 ekor mencit Balb/c jantan dengan berat badan \pm 25-30 gram dan berumur 4-6 minggu. Mencit Balb/c diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Setia Budi, Mojosongo, Surakarta. Bahan makanan mencit digunakan pakan mencit BR I.

D. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel menggunakan *incidental sampling*. Hewan uji sudah tersedia sebanyak 18 ekor, kemudian dibagi menjadi 3 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor mencit yang dipilih secara acak.

E. Klasifikasi Variabel

1. Variabel bebas : lipopolisakarida dan *cecal inoculum*
2. Variabel terikat : derajat inflamasi usus

3. Variabel luar

a. Variabel luar yang terkendali

- i. Stres, dikendalikan dengan cara adaptasi terhadap lingkungan percobaan.
- ii. Umur mencit, dikendalikan dengan cara restriksi (pembatasan kriteria inklusi) umur 4-6 minggu.
- iii. Berat badan mencit, dikendalikan dengan cara restriksi (pembatasan kriteria inklusi) 25-30 gram.

- b. Variabel luar yang tidak terkendali : variasi kepekaan mencit terhadap zat dan bahan yang digunakan.

F. Skala Variabel

Derajat inflamasi usus : ordinal

G. Definisi Operasional Variabel

1. Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (*E. Coli*) diperoleh dari Sigma Aldrich dengan dosis 0,1 mg/mencit/*i.p* (Wang *et al.*, 2006).

2. Cecal inoculum

Cecal inoculum dibuat baru setiap hari dari mencit donor yang dikorbkan dengan mensuspensikan 200 mg material *cecal* pada 5 mL *dextrose water* 5% (D₅W) steril (Ren *et al.*, 2002). Pada hewan coba digunakan injeksi *cecal inoculum* 4 mg/mencit secara *intrapertoneal* (Copra dan Sharma, 2007).

3. Derajat inflamasi usus

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

Grading reaksi 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 terpulas basofilik pucat. Terdapat kurang dari 1% dari leukosit darah.

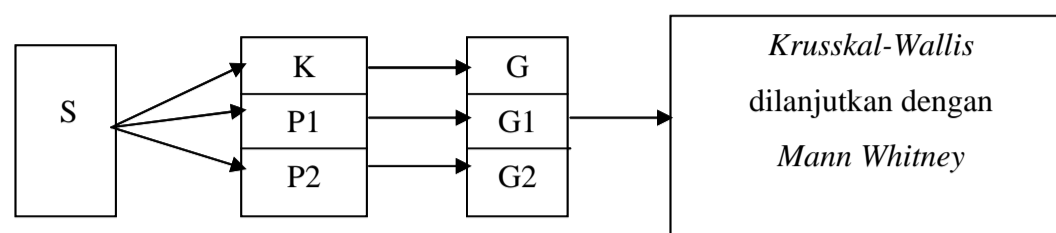
d. Monosit

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
 P1 : Kelompok perlakuan 1
 (Induksi sepsis model LPS 0,1 mg/mencit/*i.p.*)
 P2 : Kelompok perlakuan 2
 (Induksi sepsis *cecal inoculum* 4 mg/mencit/*i.p.*)
 G : *Grading* inflamasi kelompok kontrol negatif
 G1 : *Grading* inflamasi kelompok perlakuan 1
 G2 : *Grading* inflamasi kelompok perlakuan 2

I. Instrumentasi Penelitian

1. Alat penelitian
 - a. kandang hewan percobaan
 - b. timbangan hewan
 - c. timbangan listrik Mettler Toledo
 - d. spuit injeksi
 - e. alumunium *foil*
 - f. pipet ukur
 - g. labu takar
 - h. *beaker glass*
 - i. mikroskop cahaya

j. alat-alat pembuatan preparat histologis

k. alat bedah minor

2. Bahan penelitian

a. Bahan Perlakuan : aquades, hewan uji (18 ekor mencit Balb/c), alkohol, *dextrose water* 5% (D₅W) steril, material *cecal* mencit Balb/c, LPS (*E.Coli*), PBS (*Phosphate-Buffered Saline*), makanan hewan uji.

b. Bahan Pembuatan Preparat : organ usus halus mencit setelah perlakuan dan kontrol, formalin 10%, alkohol 96%, toluol, xylol, parafin, pewarna Hematoksilin dan Eosin, aquades.

J. Penentuan Dosis

1. Dosis LPS

Lipopolisakarida dari Sigma Aldrich sebanyak 10 mg dilarutkan ke dalam 10 mL PBS. Untuk uji sistem imunitas dilakukan inokulasi secara *intraperitoneal* dengan LPS dosis 0,1 mg/mencit (Wang *et al.*, 2006). Sehingga dosis yang diinjeksikan permencit adalah 0,1 mL.

2. Dosis *Cecal Inoculum*

Cecal inoculum dibuat dengan mensuspensikan 200 mg material *cecal* pada 5 mL *dextrose water* 5% (D₅W) steril (Ren *et al.*, 2002). Pada hewan coba digunakan injeksi *cecal inoculum* 4 mg/mencit (Copra and Sharma, 2007). Sehingga dosis yang diinjeksikan permencit adalah 0,1 mL.

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 3 kelompok. Masing masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit.

2. Perlakuan

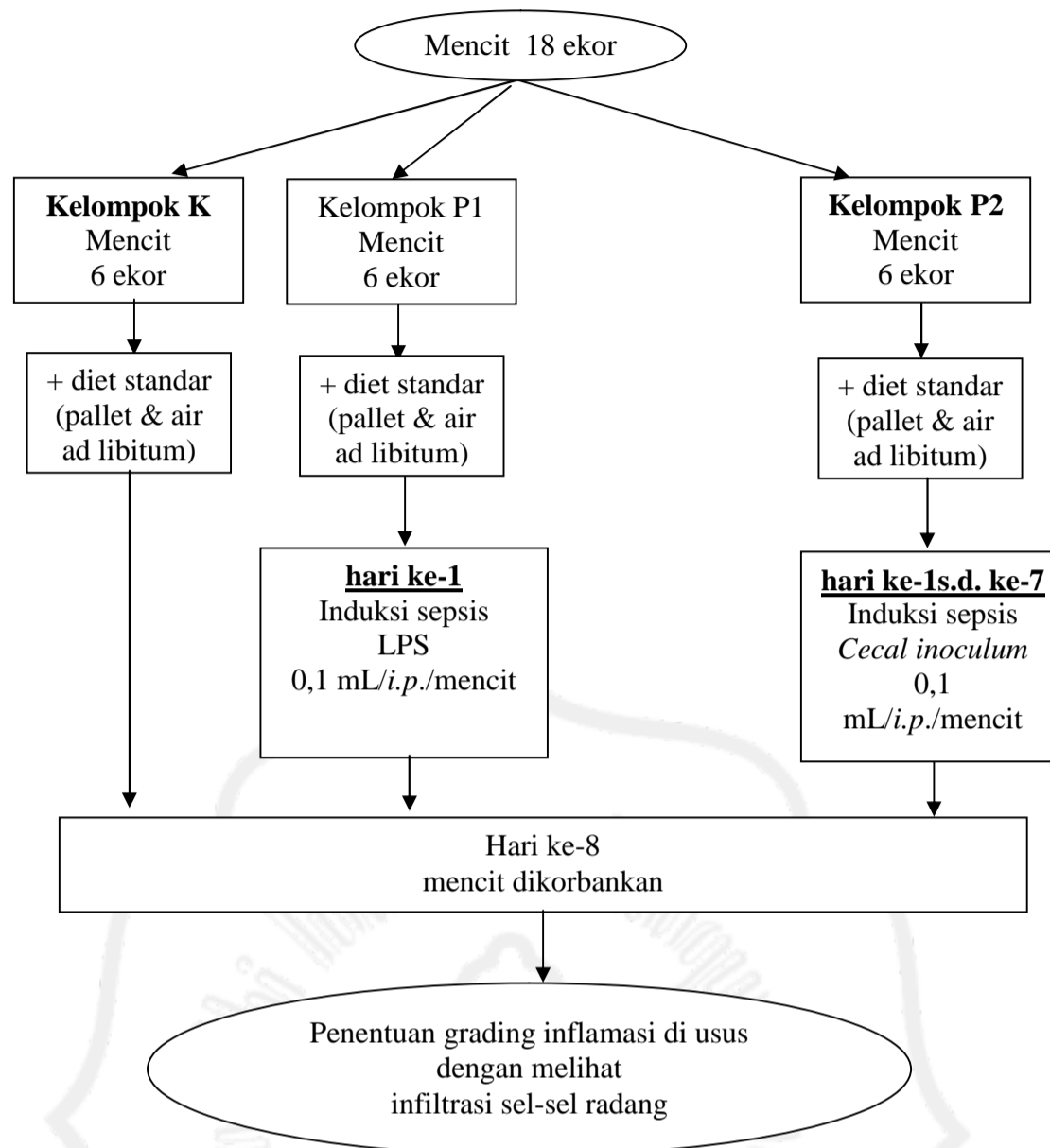
- a. Induksi sepsis model LPS :

Untuk uji sistem imunitas dilakukan injeksi secara *intraperitoneal* dengan LPS dosis 0,1 mL/mencit.

- b. Induksi sepsis model *cecal inoculum* :

Cecal inoculum diinjeksikan secara *intraperitoneal* dengan dosis 0,1 mL, dibuat baru setiap hari dan diberikan dalam waktu dua jam pada mencit. Tanda-tanda sepsis pada mencit adalah letargi, piloereksi, diare, demam, lemah (Rey *et al.*, 2006), *discharge* periokuler, penurunan nafsu makan dan minum diikuti dengan penurunan ekskresi feses (Chopra and Sharma, 2007).

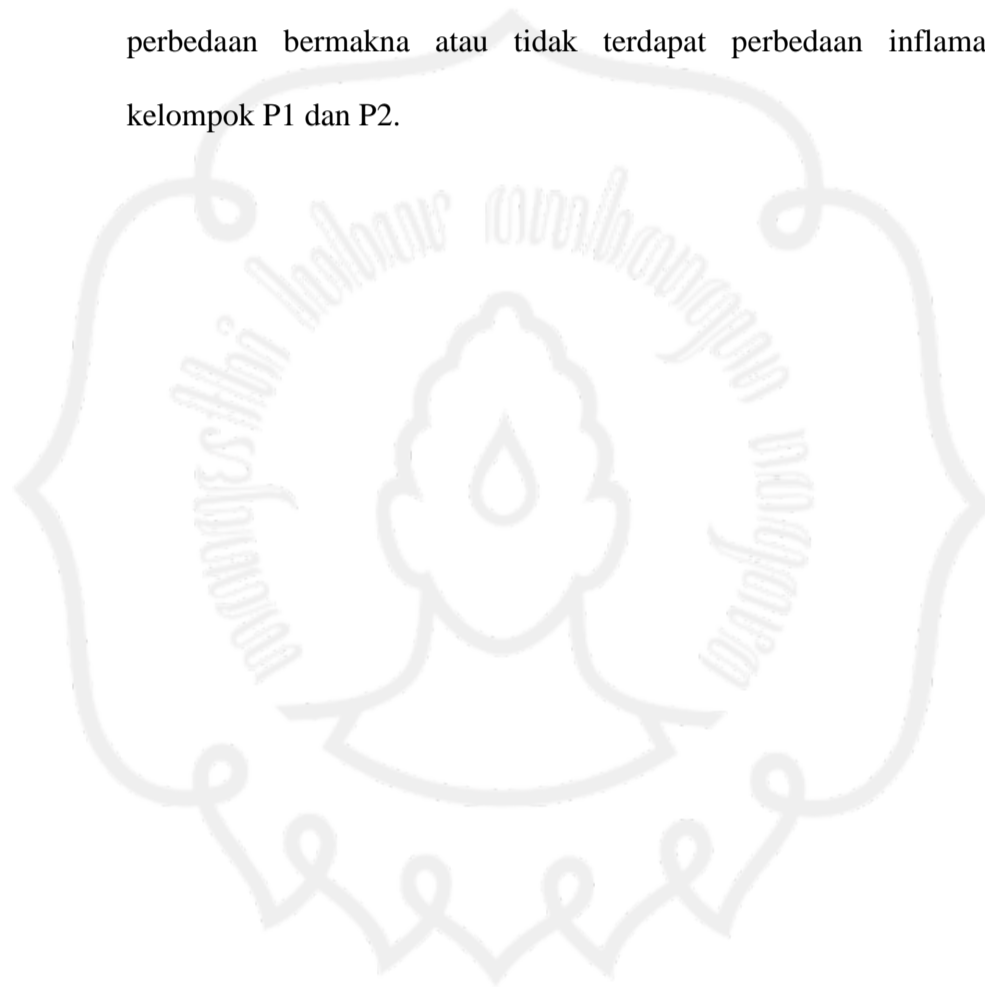
Sejak hari ke-0 sampai dengan hari ke-7 kelompok K, P1 dan P2, diberi diet standar. Masing-masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda.

L. Alur Penelitian**Gambar 3.2** Skema Alur Penelitian

M. Analisis Data

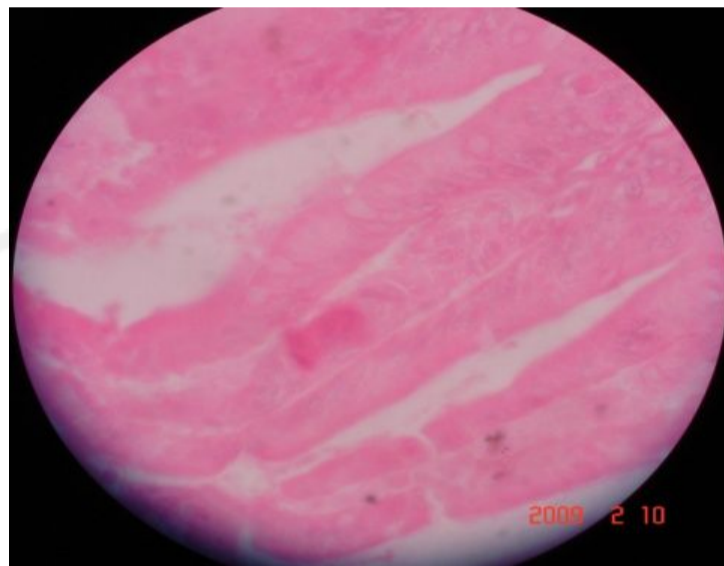
Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan *Mann Whitney*.

1. Uji statistik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan dalam kelompok populasi. Hasil yang diharapkan dalam uji ini adalah perbedaan yang bermakna atau terdapat perbedaan inflamasi usus kelompok kontrol (Kelompok K) dengan kelompok perlakuan 1 (Kelompok P1) maupun dengan kelompok perlakuan 2 (Kelompok P2).
2. Uji statistik *Mann Whitney*, untuk mengetahui letak perbedaan antar kelompok populasi. Uji ini dilakukan antara kelompok P1 dengan kelompok P2. Hasil yang diharapkan dalam uji ini adalah tidak ada perbedaan bermakna atau tidak terdapat perbedaan inflamasi usus kelompok P1 dan P2.

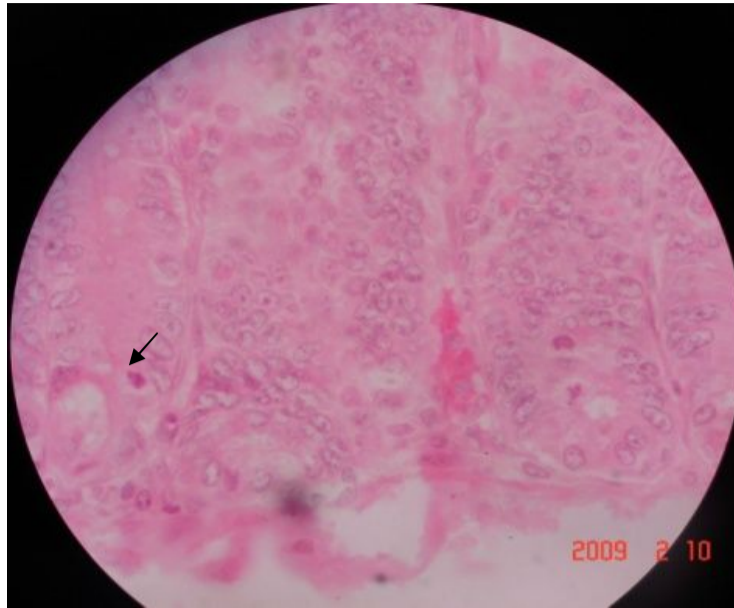


BAB IV**HASIL PENELITIAN****A. HASIL PENELITIAN**

Dari tiap mencit dibuat 3 irisan jaringan usus (3 preparat) sehingga dari tiap kelompok ada 18 gambaran histologis usus. Dari hasil pengamatan mikroskopis didapatkan gambaran histologis usus dengan berbagai derajat inflamasi yaitu pada kelompok K (kontrol) didapatkan 15 sampel dengan gambaran histologis yang normal atau *grade 0* (83,33%) dan 3 sampel dengan *grade 1* (16,67%).

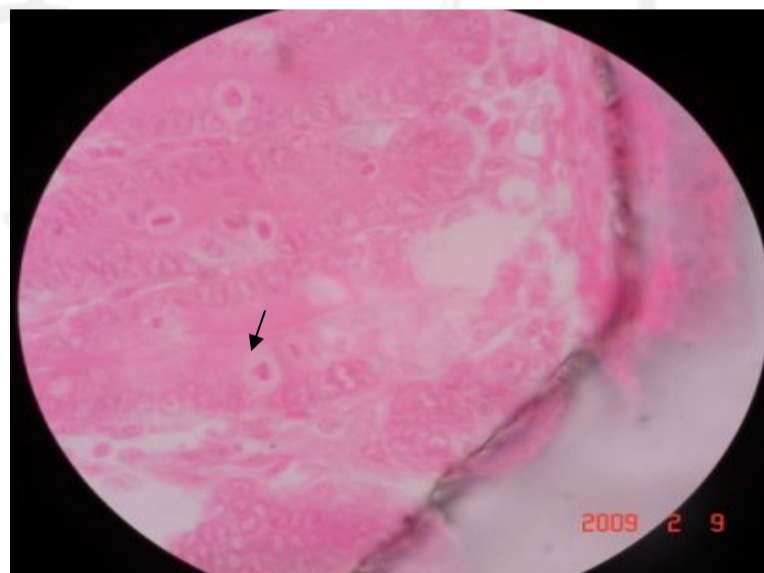


Gambar 4.1. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok K Pengecatan HE, *Grade 0* Perbesaran 1000x

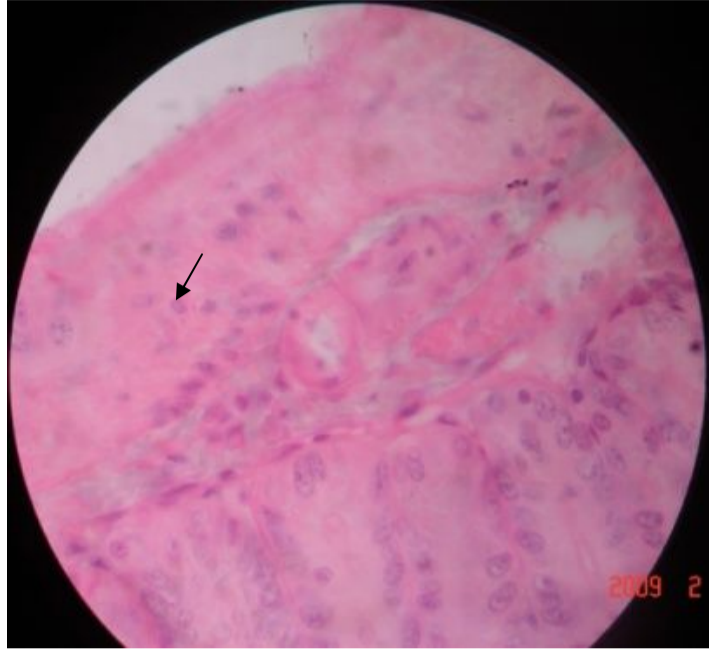


Gambar 4.2. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok K Pengecatan HE, *Grade 1* Perbesaran 1000x

Pada kelompok P1 (LPS), didapatkan 13 sampel dengan *grade 3* (72,22%) dan 5 sampel dengan *grade 4* (27,78%).

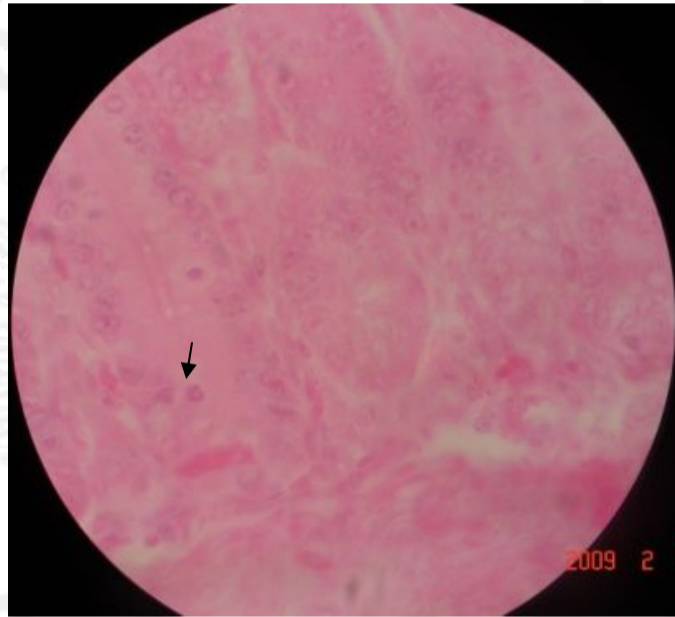


Gambar 4.3. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P1 Pengecatan HE, *Grade 3* Perbesaran 1000x

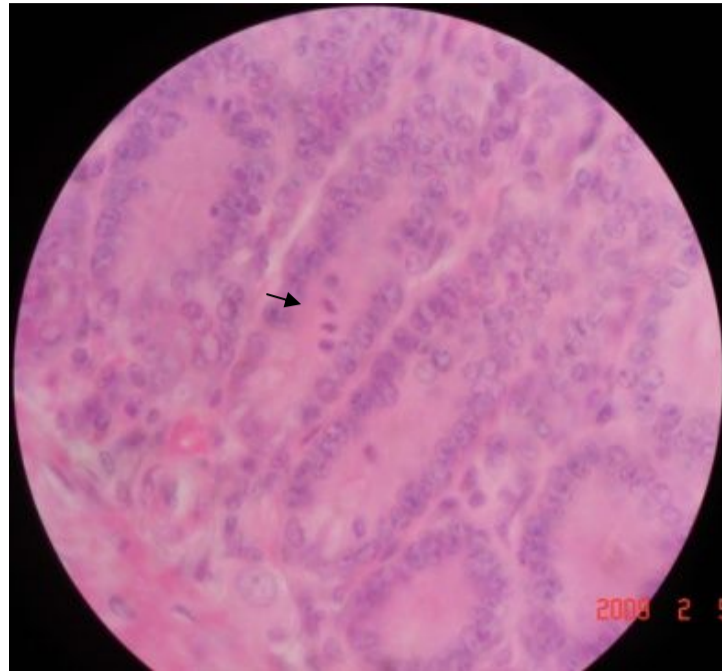


Gambar 4.4. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P1 Pengecatan HE, *Grade 4* Perbesaran 1000x

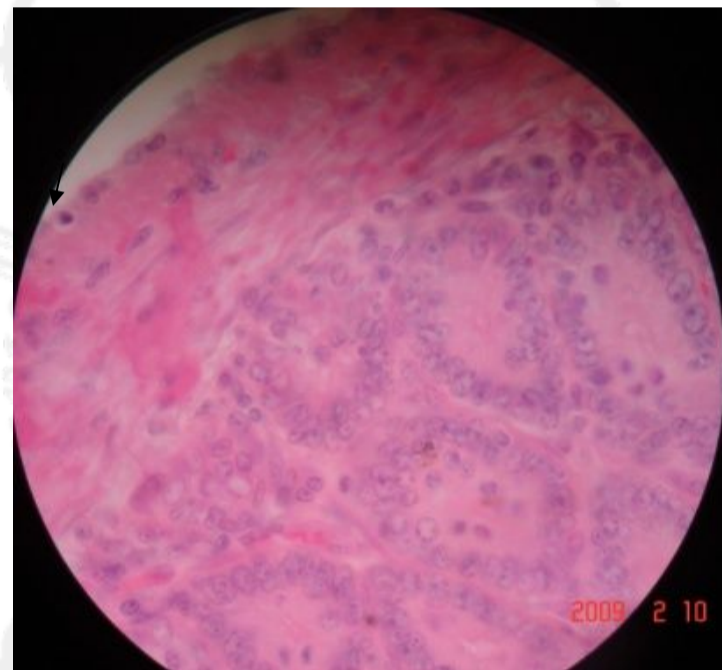
Pada kelompok P2 (CI) didapatkan 1 sampel dengan *grade 2* (5,56%), 11 sampel dengan *grade 3* (61,11%) dan 6 sampel dengan *grade 4* (33,33%).



Gambar 4.5. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P2 Pengecatan HE, *Grade 2* Perbesaran 1000x



Gambar 4.6. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P2 Pengecatan HE *Grade 3* Perbesaran 1000x



Gambar 4.7. Gambaran Histologis Usus Mencit Balb/c pada Kelompok P2 Pengecatan HE, *Grade 4* Perbesaran 1000x

Data hasil pengamatan untuk masing-masing kelompok, yaitu kelompok kontrol (K), kelompok perlakuan 1 (P1) dan kelompok perlakuan 2 (P2) disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Jumlah dan persentase derajat inflamasi usus pada masing-masing kelompok

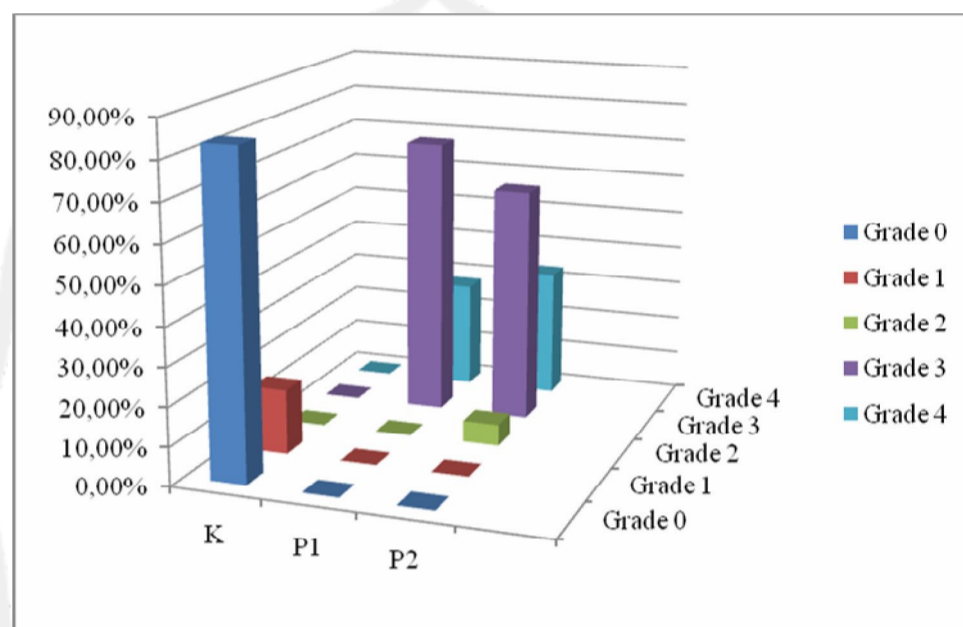
Grade	K		P1		P2	
	Jumlah	%	Jumlah	%	Jumlah	%
0	15	83,33	0	0	0	0
1	3	16,67	0	0	0	0
2	0	0	0	0	1	5,56
3	0	0	13	72,22	11	61,11
4	0	0	5	27,78	6	33,33

Keterangan :

K : Kelompok kontrol

P1 : Kelompok perlakuan 1 (LPS)

P2 : Kelompok perlakuan 2 (CI)



Gambar 4.8. Persentase derajat inflamasi usus pada masing-masing kelompok

Keterangan :

K : Kelompok kontrol

P1 : Kelompok perlakuan 1 (LPS)

P2 : Kelompok perlakuan 2 (CI)

B. ANALISIS DATA

Data yang diperoleh diuji dengan uji statistik menggunakan *software* program *SPSS For Windows Release 16*. Hasil perhitungan statistik dengan uji *kruskal-wallis* diperoleh nilai Sig. 0,000 dengan ($\alpha=0,05$ dan $df=1$), dapat dilihat pada lampiran C. Sehingga terdapat perbedaan bermakna di antara tiga kelompok sampel yaitu kelompok K, kelompok P1 dan kelompok P2. Dengan kata lain, terdapat perbedaan gambaran histologis pada seluruh kelompok perlakuan tanpa diketahui kelompok mana yang berbeda. Untuk itu dilanjutkan dengan uji statistik *mann-whitney*.

Dari hasil uji *mann-whitney* ($\alpha=0,05$), terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok K-P1 dan K-P2 dengan nilai Sig. 0,000. Sedangkan pada kelompok P1 dan P2, diperoleh nilai Sig. 0,923. Sehingga tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok P1 dan P2. Data mengenai perhitungan uji *mann-whitney* dengan program *SPSS For Windows Release 16* tersebut dapat dilihat pada lampiran C.

Tabel 4.2. Ringkasan hasil perhitungan dengan uji *mann-whitney* ($\alpha=0,05$) pada masing-masing kelompok.

Kelompok	Sig. ($\alpha=0,05$)	P value
K-P1	0,000	Perbedaan bermakna
K-P2	0,000	Perbedaan bermakna
P1-P2	0,923	Tidak ada perbedaan bermakna

Keterangan :

- K : Kelompok kontrol
- P1 : Kelompok perlakuan 1 (LPS)
- P2 : Kelompok perlakuan 2 (CI)
- Sig. : Signifikan

BAB V

PEMBAHASAN

Kelompok P1 mendapatkan perlakuan berupa pemberian LPS, sedangkan kelompok P2 mendapatkan perlakuan berupa pemberian material *cecal inoculum* sebagai induksi sepsis. Adapun pada kelompok K tidak mendapat pemberian LPS maupun material *cecal inoculum*. Pada hasil uji statistik *kruskal-wallis* diperoleh hasil perbedaan bermakna, atau dengan kata lain terdapat perbedaan gambaran histologis pada seluruh kelompok perlakuan tanpa diketahui kelompok mana yang berbeda.

Adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok K dengan kelompok P1 maupun kelompok P2, menunjukkan bahwa pemberian LPS dan material *cecal inoculum* dapat menginduksi terjadinya inflamasi pada usus. Hal ini sesuai dengan teori bahwa untuk membuat model sepsis pada hewan coba dapat digunakan injeksi LPS (Garrido *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006).

LPS di dalam darah akan berikatan dengan protein darah membentuk LBP (Jessen *et al.*, 2007; Shahin *et al.*, 2006). LBP dapat langsung mengaktifkan sistem imun seluler dan humoral, yang dapat menimbulkan perkembangan gejala septikemia (Shahin *et al.*, 2006; Guntur, 2008). Overproduksi sitokin inflamasi menyebabkan hiperinflamasi seperti aktivasi respon sistemik berupa SIRS pada berbagai organ, salah satunya pada usus (Chinnaiyan, 2001). Hal ini menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya

kedalam sirkulasi sistemik (Jürgen *et al.*, 2006) serta pelepasan sitokin inflamasi yang merupakan tanda reaksi inflamasi (Jones, 2007; Jürgen *et al.*, 2006).

Begitu juga pada kelompok P2, pemberian material *cecal inoculum* mengakibatkan inflamasi usus. Hal ini sesuai dengan teori bahwa untuk membuat model sepsis pada hewan coba dapat digunakan injeksi *cecal inoculum* (Chopra dan Sharma, 2007; Garrido *et al.*, 2004; Ren *et al.*, 2002). Infeksi polimikroba yang masuk ke dalam tubuh mengaktifasi sel APC kemudian mengekspresikan imunomodulator yang dapat merangsang pembentukan sitokin proinflamasi (Guntur, 2008) sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi dengan anti-inflamasi (Daniel dan Remick, 2007). Over-produksi sitokin inflamasi menyebabkan hiperinflamasi seperti aktivasi respon sistemik berupa SIRS pada berbagai organ, salah satunya pada usus (Chinnaiyan, 2001). Pada sepsis dapat menyebabkan hipoperfusi intestinal berupa gangguan mikrosirkulasi mukosa usus, disfungsi *barrier* intestinal dengan peningkatan permeabilitas usus, invasi bakteri patogen dan toksinnya kedalam sirkulasi sistemik (Jürgen *et al.*, 2006) serta pelepasan sitokin inflamasi yang merupakan tanda reaksi inflamasi (Jones, 2007; Jürgen *et al.*, 2006)

Gambaran histologis usus disebut normal atau *grade 0* jika tidak memperlihatkan adanya tanda-tanda inflamasi yaitu tidak ada infiltrasi sel radang pada jaringan usus (Chang *et al.*, 2006). Pada kelompok K, dimana hanya mendapat pemberian diet standar, didapatkan gambaran histologis sebagian besar sampel adalah normal atau *grade 0*. Hal ini menunjukkan kesesuaian dengan teori bahwa diet standar tidak mempunyai pengaruh inflamasi pada mukosa usus mencit,

sehingga sebagian besar gambaran yang didapatkan adalah gambaran histologis usus yang normal. Pada kelompok K terdapat 16,67% yang menunjukkan *grade* 1. Hal ini dikarenakan adanya variabel luar yang tidak bisa dikendalikan, seperti kondisi psikologis mencit maupun kondisi awal usus mencit.

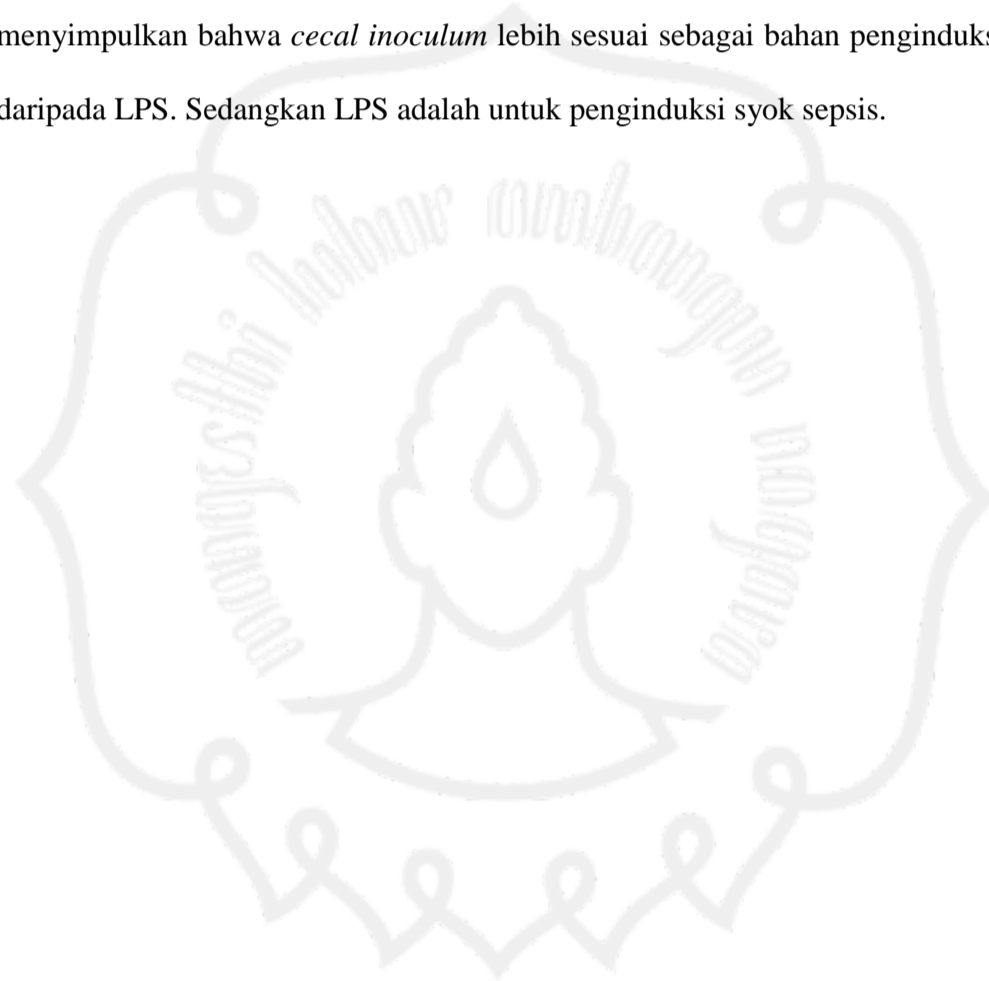
Pada hasil uji *mann-whitney* antara kelompok K dengan kelompok P1 dan antara kelompok K dengan kelompok P2, terdapat perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan gambaran histologis usus mencit antara kelompok K dengan kelompok P1 serta gambaran histologis usus mencit kelompok K dengan kelompok P2.

Pada uji statistik *mann-whitney* antara kelompok P1 dengan kelompok P2, tidak ada perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan gambaran histologis usus mencit antara kelompok P1 dengan kelompok P2. Kelompok P1 mendapat perlakuan berupa injeksi LPS yang tidak lain adalah endotoksin, yang berasal dari komponen terluar dinding kuman gram negatif (Garrido *et al.*, 2004). Sedangkan kelompok P2 mendapat perlakuan berupa injeksi *cecal inoculum*, dimana di dalamnya terkandung polimikrobial termasuk kuman gram negatif (Garrido *et al.*, 2004). Infeksi polimikroba yang masuk ke dalam tubuh mengaktivasi sel APC, mengekspresikan imunomodulator yang dapat merangsang pembentukan sitokin proinflamasi (Guntur, 2008) sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan IFN- γ dengan anti-inflamasi (IL-1ra, IL-4 dan IL-10 endogen) (Daniel dan Remick, 2007). Over-produksi sitokin inflamasi menyebabkan hiperinflamasi seperti aktivasi respon

sistemik berupa SIRS terutama pada paru-paru, hati, ginjal, usus dan organ lainnya (Chinnaiyan, 2001).

Dengan demikian, sesuai dengan hipotesis penelitian ini bahwa tidak ada perbedaan bermakna derajat inflamasi usus pada mencit Balb/c model sepsis paparan LPS dengan *cecal inoculum*. *Cecal inoculum* relatif lebih murah dan lebih mirip dengan keadaan klinik karena di dalamnya terkandung polimikrobia. Sehingga *cecal inoculum* dapat digunakan sebagai bahan pilihan untuk menginduksi sepsis.

Pada kelompok P1 hanya didapatkan *grade* 3 dan 4, sedangkan kelompok P2 didapatkan hasil *grade* 2, 3 dan 4. Dengan kata lain, pada kelompok *cecal inoculum* hasil yang diperoleh lebih bervariasi *grade*-nya daripada kelompok LPS. Walaupun tidak bermakna secara statistik, tetapi hal ini makin menguatkan peneliti untuk menyimpulkan bahwa *cecal inoculum* lebih sesuai sebagai bahan penginduksi sepsis daripada LPS. Sedangkan LPS adalah untuk penginduksi syok sepsis.



BAB VI

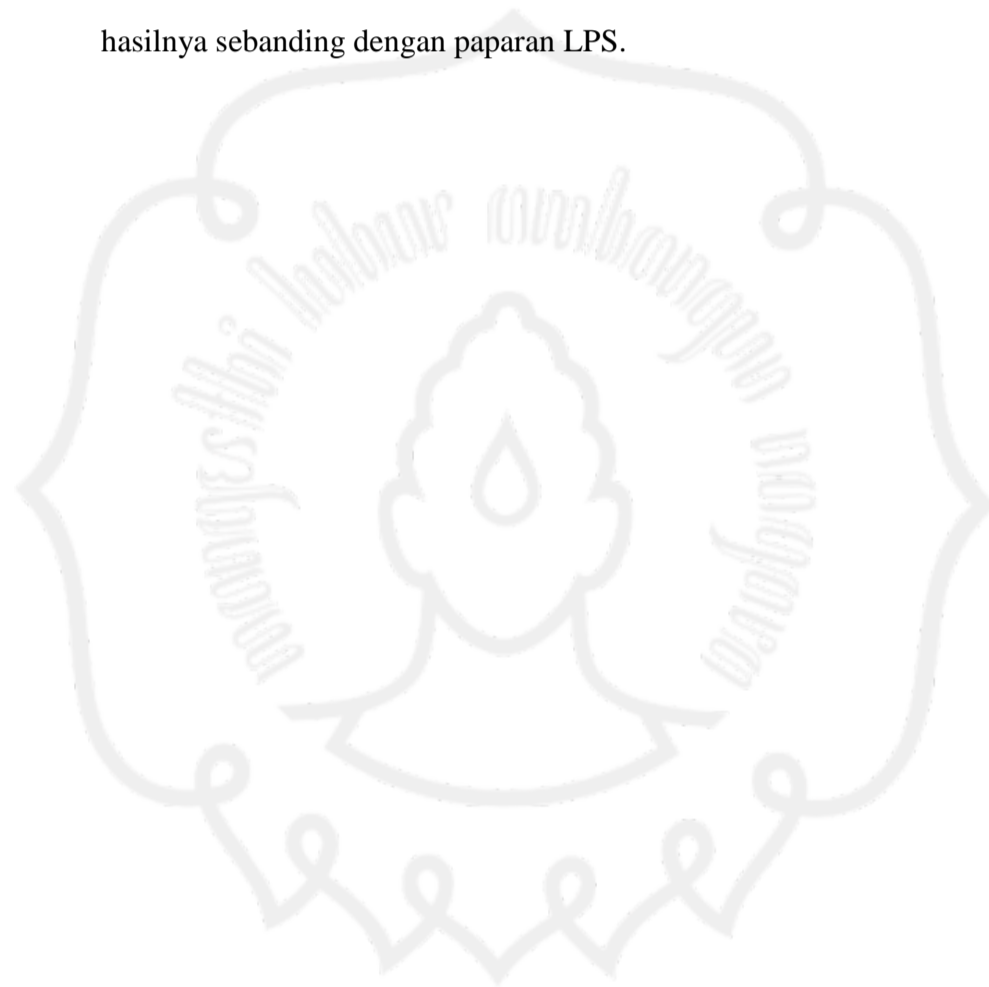
PENUTUP

A. Simpulan

Dengan dosis yang sama, *cecal inoculum* mampu menginduksi mencit Balb/c menjadi sepsis dengan menaikkan derajat inflamasi usus yang sebanding dengan paparan LPS.

B. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan parameter lain, misalnya dengan memeriksa kadar mediator inflamasi.
2. *Cecal inoculum* digunakan sebagai bahan pilihan untuk menginduksi sepsis dikarenakan biaya yang relatif lebih murah, mirip dengan masalah klinik dan hasilnya sebanding dengan paparan LPS.



DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, Guntur A.H. 2008. *Sepsis Prevalency in dr. Moewardi Surakarta 2004*. Kumpulan Karya Ilmiah A. Guntur H. Surakarta : Sebelas Maret University Press, p:11
- Bochud P.Y., Calandra T. 2003. Pathogenesis of sepsis: new concepts and implications for future treatment. *BMJ* ;326:262-6
- Calandra T., Roger T. 2003. Macrophage Migration Inhibitory Factor: A Regulator of Innate Immunity. *Immunology Vol 3*, pp : 781-4
- Castell C.D. 2006. When to Transfuse Septic Patients. *Sepsis 2nd ed.* New York : *BusinessSpringer Science Media, Inc.*, pp : 2-10.
- Chang C. and Miller J.F. 2006. *Campylobacter jejuni* Colonization of Mice with Limited Enteric Flora. *Infect Immun. September*; 74 (9) : 5261-5271.
- Chen G.H., Reddy R.C., Newstead M.W., Tateda K., Kyasapura B.L., Standiford T.J. 2000. Intrapulmonary TNF Gene Therapy Reverses Sepsis-Induced Suppression of Lung Antibacterial Host Defense. *The Journal of Immunology*, 165,p : 6496-6503
- Chopra M., Sharma A.C. 2007. Distinct cardiodynamic and molecular characteristics during early and late stages of sepsis-induced myocardial dysfunction. *Pub Med 2007 Life Sci.* 2007 July 4; 81(4): 306-316.
- Chinnaiyan A.M., Lang M.H., Sinha C.K., Barrette T.R., Sinha S.S., Sarma V.J., Padgaonkar V.A., Ward P.A.. 2001. Molecular Signatures of Sepsis Multiorgan Gene Expression Profiles of Systemic Inflammation. *Am J Pathol. October*; 159(4): 1199-1209.
- Daniel G., Remick, M.D. 2007. Pathophysiology of Sepsis. *The American Journal of Pathology Vol 120*, No. 5, pp :1435-8
- Diding H.P., Listyaningsih E.S., Guntur A.H. 2008. *Effect of Probiotic on Grading Inflammation in Intestinal Mucosa*. Kumpulan Karya Ilmiah A. Guntur H. Surakarta : Sebelas Maret University Press, p: 33-4
- Dolan S. 2000. The Sepsis Syndrome. *Health Research - Cancer Care*, pp : 54-56
- Dorland W.A. 1998. *Kamus Kedokteran Dorland*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp : 199, 559, 979.

- Garrido A.G, Poli de Figueiredo L.F, Rocha e Silva M. Experimental Models of Sepsis and Septic Shock : an Overview. *Acta Cirurgica Brasileira* – Vol 19 (2) 2004., pp : 82-8
- Gartner L.P. and Hiatt J.L. 2007. *Color Textbook of Histology*. Philadelphia: Elsevier Saunder, pp: 398-406.
- Giacometti A., Cirioni O., Ghiselli R. , Mocchegiani F., Del Prete M.S., Viticchi C., Kamysz W., Łempicka E.B., Saba V., Scalise G. 2002. Potential Therapeutic Role of Cationic Peptides in Three Experimental Models of Septic Shock. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, July 2002, Vol. 46, No. 7, p : 2132
- Guntur A.H. 2008. Sepsis. *SIRS, Sepsis, dan Syok Sepsis (Imunologi, Diagnosis, Penatalaksanaan)*. Surakarta : Sebelas Maret University Press, pp : 1-8
- Hotchkiss R.S., Karl I.E. 2003. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *N Engl J Med* January 9, 2003. p : 141
- James M.J., Naeem A.A., and Edward A. 2005. Year in review in Critical Care, 2004: sepsis and multi-organ failure. *Critical Care*. 9(4): 409–413.
- Jaimes F., Dennis R.J. 2006. *Sepsis Occurrence and Its Prognosis in Latin America*. Sepsis 2nd Businessed. New York, Springer Science Media, Inc., pp : 30-3
- Jessen K.M., Lindboel S.B., Petersen A.L., Olsen J.E., Benfield T. 2007. Common TNF- α , IL-1 β , PAI-1, uPA, CD14 and TLR4 Polymorphisms are Not Associated with Disease Severity or Outcome from Gram Negative Sepsis. *BMC Infectious Diseases* 2007, 7:108
- Jones Daniel O'connor. 2007. *Crash course pathology 2th ed*. St Louis: C.V. Mosby Co., p:17.
- Junqueira L.C., Carneiro J. 2005. *Basic Histology text and atlas 11th ed*. Boston: Mc Graw Hill Co, pp: 298-331.
- Jürgen B., 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. *Critical Care*.10(4): R117.
- 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
- Lauralee Sherwood. 2001. *Fisiologi Manusia: dari Sel ke Sistem Ed.2*. Jakarta: EGC. p: 354-356.

- Lloyd D.A.J. and Gabe S.M. 2008. Intestinal Morphology, Intestinal Regeneration and the Promise of Tissue Engineering. *Intestinal Failure: Diagnosis, Management and Transplantation*. p: 13
- 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.
- Ren, Jun, Ren, Bonnie H., Sharma, Avadhesh C. 2002. Sepsis-Induced Depressed Contractile Function of Isolated Ventricular Myocytes Is Due to Altered Calcium Transient Properties [Basic Science Aspects]. *Shock*:Volume 18(3)September 2002. pp : 285-288
- Rey E.G., Chorny A., Robledo G., Delgado M. 2006. Cortistatin, A New Antiinflammatory Peptide with Therapeutic Effect on Lethal Endotoxemia. *JEM* Vol. 203, No. 3, March 20, 2006.pp: 563–571
- Routsis C., Giamarellos-Bourboulis E.J., Antonopoulou A., Kollias S., Siasiakou S., Koronaios A., Zakynthinos S., Armaganidis A., Giamarellou H. 2005. Does Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 Play Any Role in The Pathogenesis of Septic Shock?. *British Society for Immunology* 142 :62-3
- Shahin G., Ole Græsboell K., Court P., and Svend S.P. 2006. Procalcitonin, lipopolysaccharide-binding protein, interleukin-6 and C-reactive protein in community-acquired infections and sepsis: a prospective study. *Critical Care* , 10:R53.
- Sigma-Aldrich Co. 2008.
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search/SearchResultsPage/PricingAvailability/SIGMA;L2018>. (2 September 2008)
- Suhardjono, D., 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal:207.
- Sumarmi S., Guntur A.H., *Sepsis in Eldery*. Kumpulan Karya Ilmiah A. Guntur H. Surakarta : Sebelas Maret University Press, p: 143
- Tang B.M.P., Eslick G.D., Craig J.C., McLean A.S. 2007. Accuracy of Procalcitonin for Sepsis Diagnosis in Critically Ill Patients: Systematic Review and Meta-Analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7; p: 210
- Victor P. Eroschenko. 2003. *Atlas Histologi di fiore dengan korelasi fungsional Ed.9*. Jakarta: EGC. pp: 62-65.

- Vincent L.S., Clausi M.C., Bruhn A. 2006. *Novel Therapies in Critically Ill Septic Patients*. Sepsis 2nd Businessed. New York, Springer Science Media, Inc., pp : 36-40
- Wang X.L., Li Y., Kuang J.S., Zhao Y., Liu P. 2006. Increased Heat Shock Protein 70 Expression in the Pancreas of Rats with Endotoxic Shock. *World J Gastroenterol*; 12(5):780-783
- Wong J., Kumar A. 2006. *Myocardial Depression in Sepsis and Septic Shock*. Sepsis 2nd edBusiness. New York, Springer Science Media, Inc., pp : 33-6
- Wong O.H., Huang F.P., Chiang A.K.S. 2005. Differential of Cord and Adult Blood Derived Dendritic Cells to Dying Cell. *Immunology*, 116, p : 18



Lampiran A. Jadwal Penelitian

Hari ke	1	2	3	4	5	6	7	8
Kelompok K								Pengorbanan
Kelompok P1	Q							
Kelompok P2	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	⊗	

Keterangan :

K : Kelompok Kontrol

P1 : Kelompok Perlakuan 1 (LPS)

P2 : Kelompok Perlakuan 2 (*cecal inoculum*)Q : Induksi sepsis model LPS 0,1 mL/mencit/*i.p.*⊗ : Induksi sepsis *cecal inoculum* 0,1 mL/mencit/*i.p.*

Lampiran B. Hasil Grading Inflamasi Usus pada Masing-masing Kelompok.**Tabel 1.** Hasil Grading Inflamasi Usus pada Kelompok Kontrol (K)

Kelompok Kontrol (K)	Derajat Inflamasi Usus				
	Grade 0	Grade1	Grade2	Grade3	Grade4
1	3	0	0	0	0
2	3	0	0	0	0
3	2	1	0	0	0
4	2	1	0	0	0
5	3	0	0	0	0
6	2	1	0	0	0
Σ	15	3	0	0	0

Tabel 2. Hasil Grading Inflamasi Usus pada Kelompok Perlakuan 1 (P1)

Kelompok Perlakuan 1 (P1)	Derajat Inflamasi Usus				
	Grade 0	Grade1	Grade2	Grade3	Grade4
1	0	0	0	2	1
2	0	0	0	2	1
3	0	0	0	3	0
4	0	0	0	2	1
5	0	0	0	2	1
6	0	0	0	2	1
Σ	0	0	0	13	5

Tabel 3. Hasil Grading Inflamasi Usus pada Kelompok Perlakuan 2 (P2)

Kelompok Perlakuan 2 (P2)	Derajat Inflamasi Usus				
	Grade 0	Grade1	Grade2	Grade3	Grade4
1	0	0	1	2	0
2	0	0	0	2	1
3	0	0	0	2	1
4	0	0	0	2	1
5	0	0	0	2	1
6	0	0	0	1	2
Σ	0	0	1	11	6

Lampiran C. Hasil Uji Analisis *Kruskal-Wallis* dan *Man-Whitney* dengan Program *SPSS For Windows Release 16*

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Derajat inflamasi usus	54	2.61	1.071	1	4
Kelompok perlakuan	54	2.00	.824	1	3

Kruskal-Wallis Test

Ranks

	Kelompok perlakuan	N	Mean Rank
Derajat inflamasi usus	P1(LPS)	18	36.36
	P2(CI)	18	36.50
	K	18	9.64
	Total	54	

Test Statistics^{a,b}

	Derajat inflamasi usus
Chi-Square	39.160
df	2
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok perlakuan

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Derajat inflamasi usus	36	2.31	1.142	1	4	1.00	2.50	3.00
Kelompok perlakuan	36	1.50	.507	1	2	1.00	1.50	2.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat inflamasi usus	P1(LPS)	18	27.50	495.00
	K	18	9.50	171.00
	Total	36		

Test Statistics^b

	Derajat inflamasi usus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	171.000
Z	-5.375
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok perlakuan

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Derajat inflamasi usus	36	2.28	1.137	1	4	1.00	2.00	3.00
Kelompok perlakuan	36	1.50	.507	1	2	1.00	1.50	2.00

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat inflamasi usus	P2(CI)	18	27.36	492.50
	K	18	9.64	173.50
	Total	36		

Test Statistics^b

	Derajat inflamasi usus
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	173.500
Z	-5.273
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok perlakuan

NPar Tests**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
Derajat inflamasi usus	36	3.28	.513	2	4	3.00	3.00	4.00
Kelompok perlakuan	36	1.50	.507	1	2	1.00	1.50	2.00

Mann-Whitney Test**Ranks**

	Kelompok perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Derajat inflamasi usus	P1(LPS)	18	18.36	330.50
	P2(CI)	18	18.64	335.50
	Total	36		

Test Statistics^b

	Derajat inflamasi usus
Mann-Whitney U	159.500
Wilcoxon W	330.500
Z	-.096
Asymp. Sig. (2-tailed)	.923
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.938 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok perlakuan

Lampiran D. Foto Alat dan Bahan Penelitian



Gambar 1. Timbangan Digital *Mettler Toledo*.



Gambar 2. Timbangan Mencit *CAMRY*.



Gambar 3. Alat bedah (*Minor Set*).



Gambar 4. *Sprit* injeksi 1mL dan 3mL.



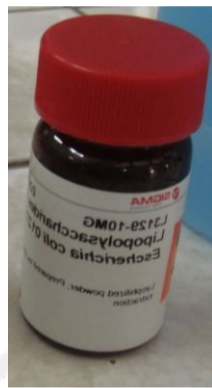
Gambar 5. Sarung tangan (*Hand Scoen*).



Gambar 6. *Sprayer* Alkohol



Gambar 7. Mencit Balb/c



Gambar 8. Lipopolisakarida



Gambar 9. *Cecal inoculum*



Lampiran E. Foto Hasil Kegiatan Penelitian



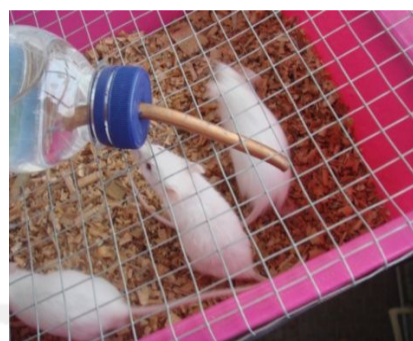
Gambar 1. Kelompok K (kontrol)



Gambar 2. Kelompok P1 (LPS)



Gambar 3. Kelompok P2 (CI)



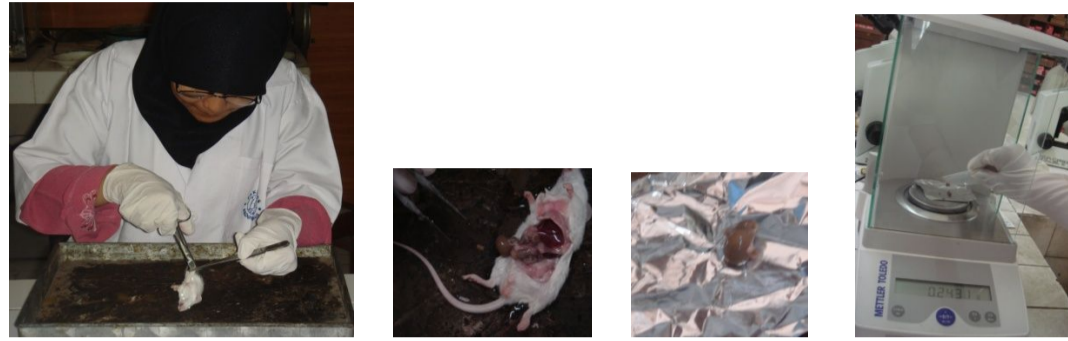
Gambar 4. Perlakuan Negatif Terhadap Kelompok Kontrol



Gambar 5. Injeksi Intraperitoneal



Gambar 6. Nekrosis Jaringan, Salah Satu Tanda Sepsis pada Mencit



Gambar 7. Pembedahan *cecum* dan Pembuatan *cecal inoculum*



Gambar 8. Pengorbanan Mencit Balb/c dengan Cara *cervical dislocation*



Gambar 9. Pembedahan dan Pengambilan Organ Usus

Lampiran F. Tabel Konversi Dosis Manusia dan Hewan

	Mencit 20 gr	Tikus 200 gr	Marmut 400 gr	Kelinci 1.5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 gr	1.0	7.0	12.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 gr	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
Marmut 400 gr	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.5
Kelinci 1.5 kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.008	0.06	0.10	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusia 70 kg	0.0026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

(Suhardjono, 1995)

Lampiran G. Tabel Daftar Volume Maximal Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan

Jenis Hewan Uji	Volume Maximal (mL) Sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
Mencit (20-30 gr)	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
Tikus (100 gr)	1,0	0,1	2,5	2,5	5,0
Hamster (50 gr)	-	0,1	1-2	2,5	2,5
Marmot (250 gr)	-	0,25	2-5	5,0	10,0
Merpati (300 gr)	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
Kelinci (2,5 kg)	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
Kucing (3 kg)	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
Anjing (5 kg)	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

(Suhardjono, D., 1995. Percobaan Hewan Laboratorium. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal : 207)

Keterangan :

i.v. : intravena

i.m. : intramuscular

i.p. : intraperitoneal

s.c. : subcutan

p.o. : peroral

