

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kolitis adalah peradangan akut atau kronik pada kolon yang dapat disebabkan oleh berbagai penyakit baik akibat infeksi maupun non-infeksi. Kolitis ditunjukkan oleh adanya gejala seperti diare, perdarahan rektal, nyeri perut, tenesmus, dan penurunan berat badan. Kolitis dapat mengganggu kualitas hidup penderitanya dan pada kondisi yang berat dapat terjadi kolitis fulminan. Salah satu penyakit penyebab kolitis yang merupakan masalah kesehatan global adalah *inflammatory bowel disease* (IBD) (Neurath, 2014).

*Inflammatory bowel disease*, seperti penyakit Crohn dan kolitis ulseratif adalah gangguan yang kronik dan berulang pada traktus gastrointestinal yang ditandai dengan adanya inflamasi usus dan kerusakan epitel (Neurath, 2014). Jumlah pasien IBD terus meningkat setiap tahun, diperkirakan terdapat lebih dari 160.000 pasien dengan kolitis ulseratif (sekitar 100 per 100.000) dan 40.000 pasien dengan penyakit Crohn (sekitar 27 per 100.000) (Matsuoka *et al.*, 2018). Prevalensi IBD di negara-negara Asia lebih rendah walau terus meningkat seiring tingginya urbanisasi. Insiden tertinggi terjadi di Asia Timur (Korea, Jepang, Cina, Hong Kong) dan Asia Selatan (India) (Ng WK, Wong, dan Ng SC, 2016). Di Indonesia, berdasarkan laporan dari beberapa rumah sakit di Jakarta didapatkan kasus IBD sebanyak 12,2% dari kasus yang dikirim dengan diare kronik (*Konsensus nasional penatalaksanaan IBD di Indonesia*, 2011).

*Inflammatory Bowel Disease* adalah penyakit yang menunjukkan hiperreaktivitas dari sistem imun mukosa saluran cerna terhadap mikrobiota mukosanya sendiri (Blumberg dan Snapper, 2016). Pada individu yang memiliki predisposisi genetik, interaksi antara faktor eksogen (seperti komposisi mikrobiota usus normal) dan faktor endogen *host* (seperti fungsi barier sel epitel usus, fungsi imun inat dan adaptif) menyebabkan keadaan kronik berupa gangguan fungsi imun mukosa yang lebih lanjut dipengaruhi oleh faktor lingkungan (seperti merokok dan enteropatogen), sehingga IBD dianggap sebagai respon imun yang tidak semestinya terhadap mikrobiota komensal di dalam usus, dengan atau tanpa komponen autoimun (Friedman dan Blumberg, 2013).

Barier fisik pertama dalam interaksi *host*-bakteri yang berperan penting dalam perlekatan mikroorganisme dengan permukaan usus adalah mukus usus. Mukus di kolon merupakan yang paling tebal, hal ini sesuai karena mikroorganisme paling banyak terdapat di kolon. Lapisan perlindungan ini terdiri atas campuran kompleks dari protein yang besar dan sangat terlikosilasi (musin) dan glikolipid yang meliputi sel epitel usus dan merupakan tempat perlekatan bakteri yang berkolonisasi di usus, serta dengan bakteri asam laktat (BAL) yang membantu meningkatkan kesehatan manusia dan hewan (Lukic *et al.*, 2012). Di antara gen musin manusia, MUC2 dan MUC3 merupakan gen yang predominan di kolon. Terganggunya ekspresi musin spesifik dihubungkan dengan penyakit gastrointestinal seperti penyakit Crohn dan kolitis ulseratif, menandakan pentingnya protein-protein tersebut dalam traktus gastrointestinal (La Fata, Weber dan Mohajeri, 2018).

Permukaan mukosa usus selalu berada dalam ancaman terus-menerus akan adanya invasi oleh berbagai jenis mikroorganisme. Oleh sebab itu, jaringan mukosa usus itu dilengkapi dengan sistem imun mukosa yang tangguh, yang terdiri atas berbagai sel imun dengan aktivitas yang kuat. Terdapat banyak populasi limfosit unik di dalam mukosa lamina propria, seperti sel plasma yang menyekresi IgA, sel  $T \gamma\delta$ , *innate lymphoid cells* (ILCs) dan sel *T helper 17* (Th17). Sel-sel tersebut bersama-sama memiliki peran yang sangat penting dalam pertahanan melawan infeksi patogen dan pemeliharaan sistem barier mukosa. Sebaliknya, reaksi imun yang tidak dibutuhkan terhadap antigen lingkungan yang tidak berbahaya harus ditekan (Tanoue, Atarashi dan Honda, 2016).

Kecenderungan usus untuk menekan respon imun tersebut terjadi karena adanya jalur regulasi yang sangat kuat dan tingginya konsentrasi molekul regulator yang muncul dari sel-sel di dalam usus. Sel regulator yang diketahui terdapat dalam usus normal dan relevan dengan perkembangan IBD meliputi sel T regulator natural (nTreg) yaitu sel  $T CD4^+$ ,  $CD25^+$  yang dibentuk di timus dan menginduksi sel T regulator (iTreg) yang dibentuk di jaringan perifer. Meskipun terdapat berbagai jenis sel regulator yang bekerja dalam usus, sel yang paling penting dan paling terlibat dalam regulasi imun pada IBD adalah yang disebut sel T regulator natural dan diinduksi (Blumberg dan Snapper, 2016).

Sel T regulator natural adalah  $CD4^+$ ,  $CD25^+$  yang berdiferensiasi dalam timus dan bergantung pada ekspresi faktor transkripsi unik yang disebut FOXP3. FOXP3 merupakan anggota keluarga *forkhead* dari faktor transkripsi dan dibutuhkan untuk perkembangan sel T regulator. Setelah dibentuk di timus,  $FOXP3^+$  masuk ke aliran darah dan menekan aktivitas sel T efektor (proinflamasi)

yang berdiferensiasi untuk menyekresikan sitokin Th1, Th2, atau Th17 serta sel imun inat. Karena itu, sel T regulator FOXP3<sup>+</sup> penting dalam mencegah autoimunitas (termasuk IBD) dan juga berperan penting dalam alergi, imunitas tumor, transplantasi organ, dan infeksi mikroba (Blumberg dan Snapper, 2016).

Sel Treg FOXP3<sup>+</sup> bekerja sebagai regulator dengan cara menghambat ekspresi sitokin inflamasi seperti IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ . Hal ini sesuai dengan hasil dari berbagai penelitian yang menunjukkan bahwa saat gen FOXP3 ditransfer ke sel CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>, sel-sel tersebut akan bersifat seperti sel *Treg-like*. Sebagai kemungkinan lain, sel T non-regulator dapat diinduksi menjadi fenotip regulator oleh ekspresi FOXP3 yang diinduksi TGF- $\beta$ . Karena pentingnya peran protein FOXP3 dalam perkembangan dan fungsi sel Treg, FOXP3 menjadi penanda spesifik untuk sel Treg (Wang *et al.*, 2011).

Selama remisi penyakit, sel Treg di darah perifer bermigrasi menuju mukosa yang inflamasi untuk menjaga homeostasis, dan saat penyakit dalam tahapan yang aktif lebih banyak sel Treg direkrut ke daerah yang inflamasi. Kedua mekanisme ini memicu turunnya jumlah sel Treg di darah perifer. Karena kontak antara sel ke sel sangat dibutuhkan bagi Treg untuk berfungsi, rendahnya persentase sel Treg mungkin menyebabkan tidak terhambatnya reaksi inflamasi (Wang *et al.*, 2011).

Mikrobiota komensal di usus merupakan bagian yang sangat penting dalam perkembangan dan pemeliharaan homeostasis baik sistem imun usus maupun perifer. Hal ini dibuktikan dengan penemuan bahwa terganggunya mikrobiota usus berhubungan dengan perkembangan infeksi usus dan IBD. Modifikasi mikrobiota usus dengan pemberian bakteri probiotik seperti *Lactobacillus* atau

*Bifidobacterium* merupakan strategi yang menjanjikan untuk mencegah atau mengatasi inflamasi usus yang berlebihan serta mengembalikan homeostasis imun. Efikasi probiotik dalam pengobatan inflamasi usus telah dibuktikan dalam berbagai penelitian baik terhadap model hewan maupun pasien yang menderita penyakit inflamasi usus (Smelt *et al.*, 2013). Peran probiotik pada IBD ini ditunjukkan melalui modulasi sistem inflamasi mukosa, meningkatkan eksklusi kompetitif dengan bakteri patogen, mengatur sekresi sitokin, serta mengatur permeabilitas usus (Zhang *et al.*, 2017b).

Probiotik memengaruhi sistem imun mukosa melalui proses yang dimediasi oleh *Toll-like receptor* (TLR) untuk mendukung diferensiasi sel Th1 sehingga meningkatkan produksi antibodi, meningkatkan aktivitas sel fagositik dan sel NK, menghambat jalur NF- $\kappa$ B, memicu apoptosis sel T, meningkatkan sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 dan TGF- $\beta$ , dan secara simultan menurunkan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  dan IL-8 (Abraham dan Quigley, 2014).

Bakteri asam laktat didefinisikan sebagai bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai produk utama fermentasinya (Masood *et al.*, 2011). Bakteri tersebut adalah bakteri Gram positif yang dipersatukan oleh kesamaan karakter morfologi, metabolik dan fisiologis (Axelsson, 2004). Termasuk ke dalam bakteri ini sejumlah genus seperti *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, dan *Lactobacillus* (Chapot-Chartier dan Kulakauskas, 2014).

Bakteri asam laktat terdapat dalam mikrobiota usus manusia. Beberapa strain BAL alami khususnya *lactobacilli*, dijual secara komersial sebagai probiotik yang meningkatkan kesehatan. Karena status BAL yang *generally recognized as safe* (GRAS), maka BAL dapat dijadikan vektor yang cocok untuk mengirimkan

protein terapeutik atau antigen ke permukaan mukosa (Chapot-Chartier dan Kulakauskas, 2014). Bakteri asam laktat memiliki efek yang menguntungkan untuk traktus gastrointestinal karena BAL membantu mengembalikan flora normal usus, mengeliminasi bakteri patogen, memperkuat kemampuan barier usus terhadap antigen, menstimulasi imunitas nonspesifik seperti fagositosis, menstimulasi imunitas humoral dan memproduksi produk-produk anti-inflamasi (Masood *et al.*, 2011).

Berbagai penelitian terhadap model hewan yang diinduksi kolitis telah membuktikan peran BAL dalam perbaikan kolitis melalui berbagai mekanisme. Salah satu kriteria penting dalam memilih BAL yang digunakan adalah spesifisitas *host*-nya. Strain BAL dengan kemampuan yang baik dalam perlekatan dengan sel epitel akan lebih cocok untuk membentuk koloni di usus dan membangun mekanisme pertahanan melawan patogen (Campana *et al.*, 2017). Strain probiotik yang merupakan habitat aslinya akan beradaptasi dengan lebih baik dengan keadaan ekologi *host* (Kumar *et al.*, 2016). Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti ingin membuktikan pengaruh pemberian BAL terhadap tanda klinis, FOXP3, aktivitas mukus kolon, sitokin pro-inflamasi/anti-inflamasi dan histopatologi kolon dalam perbaikan kolitis yang diinduksi obat pada tikus. Pada penelitian ini, BAL yang diberikan itu adalah yang diisolasi dari feses tikus itu sendiri, sehingga BAL lebih mampu membentuk koloni dan bertahan lama di habitat aslinya dibandingkan BAL dari sumber lain.

## 1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah jenis BAL yang dapat diisolasi dari feses tikus *Rattus norvegicus* yang sehat?
- 1.2.2 Bagaimanakah pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perbaikan klinis tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis?
- 1.2.3 Bagaimanakah pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap aktivitas mukus kolon (ekspresi gen MUC2) tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis?
- 1.2.4 Bagaimanakah pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap ekspresi gen FOXP3 tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis?
- 1.2.5 Bagaimanakah pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perubahan sitokin anti-inflamasi (ekspresi gen IL-10) tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis?
- 1.2.6 Bagaimanakah pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perubahan sitokin pro-inflamasi (ekspresi gen TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ ) tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis?
- 1.2.7 Bagaimanakah pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perubahan histopatologi mukosa kolon tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis?

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian bakteri asam laktat (BAL) yang diisolasi dari feses tikus terhadap mukosa kolon tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengidentifikasi jenis BAL yang diisolasi dari feses tikus *Rattus norvegicus* yang sehat.
2. Menganalisis pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perbaikan klinis tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.
3. Menganalisis pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap aktivitas mukus kolon (ekspresi gen MUC2) tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.
4. Menganalisis pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap ekspresi gen FOXP3 tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.
5. Menganalisis pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perubahan sitokin anti-inflamasi (ekspresi gen IL-10) tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.
6. Menganalisis pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perubahan sitokin pro-inflamasi (ekspresi gen TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$ ) tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.

7. Menganalisis pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perubahan histopatologi mukosa kolon tikus *Rattus norvegicus* yang diinduksi kolitis.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

##### 1.4.1 Manfaat bagi ilmu pengetahuan

Penelitian ini bermanfaat sebagai landasan teori mengenai pengaruh pemberian BAL yang diisolasi dari feses tikus terhadap perbaikan kolitis pada tikus *Rattus norvegicus*.

##### 1.4.2 Manfaat bagi klinisi

Penelitian ini bermanfaat sebagai bahan pertimbangan bagi klinisi untuk memberikan BAL sebagai tambahan terapi sehingga membantu perbaikan inflamasi pada kolitis.

##### 1.4.3 Manfaat bagi masyarakat

Meningkatkan pengetahuan masyarakat mengenai manfaat probiotik terhadap kesehatan khususnya saluran cerna.

