

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Blastocystis sp* merupakan salah satu protozoa usus yang sering ditemukan pada manusia. *Blastocystis sp* tersebar kosmopolit dengan prevalensi yang berbeda-beda pada berbagai negara. Secara umum prevalensi *Blastocystis sp* lebih tinggi di negara berkembang daripada negara maju. Hal ini berhubungan dengan hygiene dan sanitasi yang jelek, tingkat ekonomi yang rendah, paparan binatang dan konsumsi air minum yang terkontaminasi parasit. (Hemmati *et al.*, 2017; Kumarasamy *et al.*, 2023)

Hasil survey epidemiologi parasit usus mendapatkan *Blastocystis sp* merupakan parasit yang paling tinggi angka kejadiannya. Penelitian yang dilakukan pada lima wilayah di Kolombia mendapatkan bahwa *Blastocystis sp* merupakan protozoa usus yang paling tinggi angka kejadiannya yaitu sebesar 54,5% diikuti *Giardia lamblia* 45,4% (Higuera *et al.*, 2020). Penelitian yang serupa di Iran juga mendapatkan angka kejadian *Blastocystis sp* paling tinggi dibandingkan protozoa usus lainnya (Sarkari *et al.*, 2016; Taherkhani *et al.*, 2019).

Angka kejadian *Blastocystis sp* sangat bervariasi pada berbagai negara. Penelitian di sebuah rumah sakit di Italia melaporkan angka kejadian *Blastocystis sp* pada pasien yang melakukan pemeriksaan feses rutin sebesar 7,6% (Gabrielli *et al.*, 2020), di Cina dilaporkan angka kejadian *Blastocystis sp* sebesar 6,29% (Gong *et al.*, 2019). Angka kejadian *Blastocystis sp* pada anak-anak usia 1-12 tahun di Panama sebesar 21,2% dengan pemeriksaan mikroskopis dan 74,2% dengan PCR

(Perea *et al.*, 2020). Sementara di Indonesia, dilaporkan prevalensi *Blastocystis sp* pada anak-anak di Sumba sebesar 29,9% (Yoshikawa, Tokoro, *et al.*, 2016). Angka kejadian *Blastocystis sp* di Padang dilaporkan sebesar 21,3% dengan pemeriksaan mikroskopis dan 32,8% dengan PCR (Nofita, Harminarti and Rusjdi, 2015).

*Blastocystis sp* pertama kali ditemukan pada tahun 1911 oleh Alexeieff, namun sampai saat ini masih banyak hal yang menjadi perdebatan. Salah satunya adalah potensi patogen dari parasit ini. Sebagian peneliti menyatakan bahwa *Blastocystis sp* merupakan mikroorganisme komensal, atau patogen oportunistik, sementara peneliti yang lain meyakini bahwa *Blastocystis sp* merupakan patogen sejati (Roberts *et al.*, 2014; Mohamed *et al.*, 2017).

Penularan *Blastocystis sp* terjadi secara fekal-oral. Gejala klinis yang disebabkan oleh *Blastocystis sp* sangat bervariasi, mulai dari asimtomatik, gejala intestinal, seperti nyeri perut, diare, distensi abdomen, *iritabel bowel syndrome* bahkan ada yang melaporkan infeksi *Blastocystis sp* berhubungan dengan kanker kolon dan gejala ekstraintestinal seperti urtikaria (Basak and Rajurkar, 2014; Roberts *et al.*, 2014; Kumarasamy *et al.*, 2017; Nieves-Ramírez *et al.*, 2018). Hasil penelitian di Malaysia telah membuktikan infeksi *Blastocystis sp* pada tikus menyebabkan kerusakan sel epitel usus dan stress oksidatif sehingga dapat memicu terjadinya kanker kolon (Kumarasamy *et al.*, 2017).

Hasil analisa gen *smallsubunit* (SSU) rRNA *Blastocystis sp*, setidaknya terdapat 28 sub tipe (ST) yang telah diidentifikasi dan sub tipe yang dapat menginfeksi manusia adalah sub tipe 1-9 dengan ST3 merupakan ST yang paling dominan, kemudian diikuti ST1 dan ST2. Sebaran sub tipe bervariasi pada berbagai

negara. ST yang paling banyak ditemukan di Iran adalah ST3, kemudian ST1 dan ST2 (Maleki *et al.*, 2022). Subtipe yang paling banyak ditemukan di Malaysia adalah ST3 (54,7%), sama dengan Polandia, subtipe yang dominan adalah ST3 (Kumarasamy *et al.*, 2023; Rudzińska and Sikorska, 2023). Sebaran subtipe *Blastocystis sp* di Indonesia juga berbeda pada masing-masing daerah. Subtipe yang paling banyak pada anak-anak di Pulau Sumba adalah ST1 kemudian diikuti ST3 dan ST2 (Yoshikawa, Tokoro, *et al.*, 2016), sementara subtipe yang paling banyak ditemukan di Kota Jakarta adalah ST3 diikuti ST1 dan di Kota Padang adalah ST1 dan diikuti ST2 (Nofita, 2013).

Para ahli meyakini patogenitas *Blastocystis sp* berkaitan dengan subtipenya. Namun penelitian-penelitian yang telah dilakukan memperlihatkan hasil yang berbeda-beda. Cakir *et al* (2019) melaporkan bahwa subtipe 1 dan 2 lebih patogen. Mohamed *et al* (2017) mendapatkan subtipe 1 berhubungan dengan kanker kolon. Hameed *et al* (2011) berhasil mendapatkan protease sebagai faktor virulen dari *Blastocystis subtipe 3*. Stensvold *et al* (2011) melaporkan *Blastocystis subtipe 4* menyebabkan diare akut pada pasien di Denmark. Kesuma dkk (2019) melaporkan *Blastocystis subtipe 1* berhubungan dengan kejadian IBS di Indonesia.

Potensi patogen dari *Blastocystis* ST1, ST4 dan ST7 telah dibuktikan berdasarkan penelitian *in vitro* dengan kultur axenic dan penelitian pada hewan dengan isolat axenic atau kista yang dimurnikan, namun dasar molekuler dan seluler dari patogenisitas ini belum sepenuhnya dijelaskan. Hal ini menyebabkan sampai saat ini belum ada modalitas terapi yang jelas. Selama ini dianjurkan penggunaan metronidazole yang merupakan antiprotozoa yang umum digunakan.

Namun efektivitasnya masih belum jelas, bahkan pada beberapa penelitian telah dibuktikan terdapat resistensi terhadap metronidazol. (Roberts *et al.*, 2014; Ajjampur and Tan, 2016; Ajjampur *et al.*, 2016; Rajamanikam *et al.*, 2019)

Potensi patogen yang ditunjukkan oleh parasit ini antara lain kemampuan untuk merusak sel epitel usus sehingga menyebabkan peningkatan permeabilitas baik melalui induksi apoptosis serta dengan merusak protein *tight junction*. Seperti infeksi protozoa usus lainnya, apoptosis sel host dan kerusakan fungsi barrier epitel mungkin memegang peranan penting dalam patogenesis *Blastocystis sp.* *Tight junction* disusun oleh berbagai protein transmembran seperti ocludin dan claudin. Ocludin dan claudin berinteraksi dengan protein zonula ocludin (ZO) yang berikatan dengan f-aktin yang selanjutnya mengontrol polaritas dan permeabilitas usus. Kerusakan pada protein-protein *tight junction* (TJ) ini akan menyebabkan peningkatan permeabilitas usus. Penelitian invitro yang dilakukan pada cell line epitel kolon manusia, memperlihatkan bahwa *Blastocystis ST 7* menyebabkan apoptosis sel enterosit dan kerusakan protein ZO1 dan f-aktin sehingga meningkatkan permeabilitas. Sementara penelitian in vitro pada tikus yang diinfeksi dengan *Blastocystis ST 4* tidak terdapat perubahan ekspresi mRNA ZO-1. Hal ini kemungkinan disebabkan karena efek yang berbeda pada subtipe yang berbeda. (Ajjampur and Tan, 2016; Ajjampur *et al.*, 2016)

Baik penelitian in vitro dan in vivo telah menunjukkan kemampuan *Blastocystis sp* untuk menginduksi respon proinflamasi. Suatu penelitian pada sel epitel kolon manusia menunjukkan peningkatan produksi Interleukin (IL)-8 dan *Granulocyte macrophage-colony stimulating factor* (GM-CSF). Sistein protease

meningkatkan ekspresi gen yang memproduksi IL-8 melalui aktivasi *nuclear factor kappa beta* (NF- $\kappa$ B). Penelitian lain pada tikus wistar yang diinfeksi dengan kista ST4 secara oral berhasil membuktikan adanya peningkatan interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), IL-12 dan mRNA *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  (TNF $\alpha$ ). Pada penelitian lain mencit BALB/c diinfeksi dengan ST7 secara intrasekum menunjukkan adanya penumpukan infiltrat inflamasi di submukosa usus. Penelitian terbaru berhasil membuktikan lisat dari ST7 dapat meningkatkan IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$  dan IL6 pada usus tikus dan makrofag. (Iguchi *et al.*, 2009; Ajjampur and Tan, 2016; Ajjampur *et al.*, 2016)

Pada penelitian ini akan dikaji pengaruh dari *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap respon inflamasi, apoptosis sel epitel usus dan protein *tight junction (Zonula Occludin-1)*. Dipilihnya *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* pada penelitian ini karena belum ada penelitian sebelumnya yang mengkaji patogenesis akibat *mixed infection* ini dan berdasarkan penelitian terdahulu didapatkan subtype ini merupakan subtype yang terbanyak ditemukan di Kota Padang. Beberapa penelitian telah membuktikan potensi patogen dari *Blastocystis ST 1*, seperti Kesuma *et al.* (2019) yang menemukan *Blastocystis ST 1* berhubungan dengan kejadian IBS di Indonesia. Hussein *et al* (2008) juga melaporkan mortalitas tikus yang diinokulasi dengan *Blastocystis subtype 1* sebesar 25%. Dilakukan pengkajian terhadap apoptosis sel epitel usus, ekspresi gen ZO-1 dan respon inflamasi karena berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan hal ini merupakan dasar patogenesis penyakit dari *Blastocystis ST 7* dan juga protozoa usus lainnya seperti *Cryptosporidium parvum* (Buret, Chin and Scott, 2003;

Ajjampur and Tan, 2016; Ajjampur *et al.*, 2016). Respon inflamasi dinilai dari gambaran histopatologi usus dan ekspresi protein NF-kB. Sementara bagaimana pengaruh *Blastocystis subtype 1&3* terhadap hal-hal tersebut diatas belum pernah diteliti. Berdasarkan uraian diatas, maka peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh dari *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap apoptosis sel epitel usus, ekspresi gen ZO-1 dan respon inflamasi pada tikus.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah gambaran histopatologi mukosa usus akibat pengaruh *mixed infection Blastocystis subtype 1&3*?
2. Apakah terjadi perubahan ekspresi protein NF-kB akibat *mixed infection Blastocystis subtype 1&3*?
3. Apakah terjadi apoptosis sel epitel usus akibat infeksi *mixed infection Blastocystis subtype 1&3*?
4. Apakah terjadi perubahan ekspresi protein dan gen ZO1 akibat *mixed infection Blastocystis subtype 1&3*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengkaji pengaruh *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap protein *tight junction*, apoptosis sel epitel usus dan respon inflamasi pada mukosa usus tikus.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengkaji pengaruh *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap gambaran histopatologi usus
2. Mengkaji pengaruh *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap ekspresi protein NF-kB
3. Mengkaji pengaruh *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap apoptosis sel epitel usus
4. Mengkaji pengaruh *mixed infection Blastocystis subtype 1&3* terhadap ekspresi protein dan gen ZO1

### 1.4 Manfaat Penelitian

#### 1.4.1 Ilmiah

- Menambah pengetahuan mengenai patogenesis *Blastocystis sp*, terutama efek *Blastocystis sp* terhadap permeabilitas usus dan respon inflamasi.
- Dasar untuk penelitian-penelitian lebih lanjut mengenai patogenesis *Blastocystis sp*

#### 1.4.2 Praktisi

- Dengan diketahuinya efek patogen dari *Blastocystis sp* dapat memberikan masukan kepada klinisi untuk memikirkan *Blastocystis sp* sebagai salah satu kemungkinan penyebab dari berbagai kelainan intestinal.

- Dengan diketahuinya patogenesis *Blastocystis sp* terutama dari aspek hostnya akan dapat menambah pendekatan untuk terapi *Blastocystis sp* yaitu selain pemberian antiprotozoa untuk membunuh parasitnya juga bisa dikembangkan terapi dengan penguatan aspek hostnya.

