

# **DISERTASI**

**KAJIAN GEN ZONULA OCLUDIN 1 (ZO-1), PROTEIN NUCLEAR  
FACTOR KAPPA BETA (NF- $\kappa$ B) DAN APOPTOSIS SEL  
EPITEL USUS AKIBAT MIXED INFECTION  
BLASTOCYSTIS SUBTIPE 1 & 3**

*Penelitian Eksperimental Pada Tikus*



Oleh  
**EKA NOFITA**  
**NIM 1730312016**

**PROMOTOR :**

**Prof. Dr. Nuzulia Irawati, MS NIP: 1955090519811032001**

**CO PROMOTOR 1 :**

**Prof. Dr. Dr. Eryati Darwin, PA(K) NIP: 195311091982112001**

**CO PROMOTOR 2 :**

**Dr. dr. Netti Suharti, M.Kes NIP: 196601081995032001**

**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIS PROGRAM DOKTOR  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2024**

## ABSTRAK

### **KAJIAN GEN *ZONULA OCLUDIN 1 (ZO-1)*, *PROTEIN NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (NF-kB)* DAN *APOPTOSIS SEL EPITEL USUS* AKIBAT *MIXED INFECTION BLASTOCYSTIS SUBTIPE 1 & 3***

Eka Nofita

*Blastocystis sp* merupakan salah satu protozoa usus yang cukup sering ditemukan pada manusia, namun sampai saat ini patogenesis dari protozoa ini masih belum jelas. Salah satu faktor yang mempengaruhi adalah subtipe genetiknya. Subtipe yang paling sering menginfeksi manusia adalah subtipe 1-4. Subtipe *Blastocystis* yang banyak ditemukan di Indonesia, khususnya di Kota Padang adalah *Blastocystis ST 1* dan *ST3*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh *mixed infection Blastocystis ST 1* dan *ST3* terhadap apoptosis sel epitel usus, respon inflamasi dan ekspresi gen *ZO-1* dan pada jaringan usus tikus.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post test only control group*. Sebanyak 18 ekor tikus dibagi secara acak menjadi 3 kelompok sampel yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan dengan pemberian *Blastocystis ST 1&3* dosis  $10^4$  dan perlakuan dengan pemberian *Blastocystis ST 1&3* dosis  $10^5$ . Ekspresi gen dan protein *ZO-1* dinilai dengan melakukan pemeriksa RT-qPCR dan immunohistokimia jaringan kolon tikus, apoptosis sel epitel usus dilihat dengan pemeriksaan immunohistokimia protein caspase 3 sedangkan respon inflamasi dinilai melalui pemeriksaan immunohistokimia protein *NF-kB*. Untuk melihat kemaknaan perbedaan ekspresi masing-masing protein dan gen pada ketiga kelompok hewan coba dilakukan uji one way ANOVA dan uji Kruskal Wallis.

Penelitian ini mendapatkan peningkatan ekspresi protein caspase 3 dan *NF-kB* pada kelompok perlakuan dosis  $10^5$  (15,12±3,71; 14,45±5,51) dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis  $10^4$  (10,33±1,77; 8,24±2,72) dan kelompok kontrol (8,67±0,98; 7,41±1,21). Perbedaan ini bermakna secara statistik ( $P<0,05$ ). Ekspresi gen dan protein *ZO-1* terjadi penurunan pada kelompok perlakuan dosis  $10^5$  (0,63±0,15; 24,74±6,01) dibandingkan dengan kelompok perlakuan dosis  $10^4$  (1,23±0,40; 33,85±5,97) dan kelompok kontrol (1,03±0,38; 40,94±8,47). Perbedaan ini bermakna secara statistik ( $P<0,05$ ).

Dari penelitian ini disimpulkan bahwa *mixed infection Blastocystis ST 1&3* dapat meningkatkan respon inflamasi dan apoptosis pada sel epitel usus dan penurunan ekspresi gen *ZO-1*. Pengaruh ini terutama terlihat pada pemberian dosis  $10^5$ .

Kata kunci: Apoptosis, *Mixed infection Blastocystis ST 1&3*, *NF-kB*, *ZO-1*

## ABSTRACT

### *STUDY OF ZONULA OCLUDIN 1 (ZO-1) GENE, NUCLEAR FACTOR KAPPA BETA (NF-kB) PROTEIN AND APOPTOSIS INTESTINAL EPITHELIAL CELL CAUSED BY MIXED INFECTIONS BLASTOCYSTIS SUBTYPES 1 & 3*

Eka Nofita

Blastocystis sp is one of the most common intestinal protozoa found in humans, but the pathogenesis of this protozoan is still unclear. One of the influencing factors is its genetic subtype. The subtypes that most commonly infect humans are subtypes 1-4. Blastocystis subtypes that are commonly found in Indonesia, especially in Padang City are Blastocystis ST 1 and ST3. This study aims to see the effect of mixed Blastocystis ST 1 and ST3 infection on intestinal epithelial cell apoptosis, inflammatory response and ZO-1 gene expression and in rat intestinal tissue.

This research is an experimental study with post test only control group design. A total of 18 rats were randomly divided into 3 sample groups: control group, treatment group with Blastocystis ST 1&3 dose  $10^4$  and treatment group with Blastocystis ST 1&3 dose  $10^5$ . ZO-1 gene and protein expression was assessed by RT-qPCR and immunohistochemical examination of rat colon tissue, intestinal epithelial cell apoptosis was seen by immunohistochemical examination of caspase 3 protein while the inflammatory response was assessed by immunohistochemical examination of NF-kB protein. To see the significance of differences in the expression of each protein and gene in the three groups of animals, one-way ANOVA test and Kruskal Wallis test were conducted.

This study found an increase in caspase 3 and NF-kB protein expression in the 105 dose treatment group ( $15.12 \pm 3.71$ ;  $14.45 \pm 5.51$ ) compared to the 104 dose treatment group ( $10.33 \pm 1.77$ ;  $8.24 \pm 2.72$ ) and the control group ( $8.67 \pm 0.98$ ;  $7.41 \pm 1.21$ ). This difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The expression of ZO-1 gene and protein decreased in dose 105 treatment group ( $0.63 \pm 0.15$ ;  $24.74 \pm 6.01$ ) compared to dose 104 treatment group ( $1.23 \pm 0.40$ ;  $33.85 \pm 5.97$ ) and control group ( $1.03 \pm 0.38$ ;  $40.94 \pm 8.47$ ). This difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ).

This study concluded that Blastocystis ST 1&3 mixed infection can increase inflammatory response and apoptosis in intestinal epithelial cells and decrease ZO-1 gene expression. This effect was especially evident at dose 105.

Keywords: Apoptosis, Blastocystis ST 1&3 mixed infection, NF-kB, ZO-1