

**PENGARUH KOMBINASI PROBIOTIK (*Bifidobacterium infantis* dan  
*Lactobacillus acidophilus*) TERHADAP EKSPRESI TGF- $\beta$  PADA COLON  
TIKUS MODEL KOLITIS ULSERATIF**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar yang diinduksi  
*Dextran Sodium Sulphate (DSS)*)**

**Usulan Penelitian untuk Skripsi**



**diajukan oleh**

**Septian Arief Nur Rahman**

**30101800163**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**SEMARANG**

**2021**

## LEMBAR PENGESAHAN

### SKRIPSI

#### **PENGARUH KOMBINASI PROBIOTIK (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*) TERHADAP KADAR TGF- $\beta$ PADA TIKUS MODEL KOLITIS ULSERATIF**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar yang diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS))**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

**Septian Arief Nur Rahman**

**30101800163**

telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
pada tanggal 19 Januari 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

#### **Susunan Tim Penguji :**

Pembimbing I



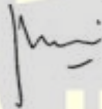
**dr. Pujiati Abbas Sp.A.**

Anggota Tim Penguji I



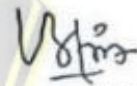
**Dr. dr. Chodidjah M.Kes**

Pembimbing II



**Dr. dr. Susilorini Sp.PA.M.Si.Med**

Anggota Tim Penguji II



**dr. Ratnawati M.Kes**

Semarang, 4 Februari 2022

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



**Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KE.**

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum wr.wb.*

Alhamdulillah, puji syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala berkah, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“PENGARUH KOMBINASI PROBIOTIK (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) TERHADAP KADAR EKSPRESI TGF- $\beta$  PADA TIKUS MODEL KOLITIS ULSERATIF (Studi Eksperimental pada Tikus Kolitis Ulseratif)”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat kelulusan tingkat sarjana kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari berbagai hambatan. Namun, berkat bimbingan dan bantuan yang diberikan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Untuk itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. S.H. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
2. dr. Pujiati Abbas, Sp.A. dan Dr. dr. Susilorini, Sp. PA, Msi.Med., selaku dosen pembimbing I dan II yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran, ilmu, serta kesabarannya dalam memberikan bimbingan, nasihat, dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
3. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes. dan dr Ratnawati M.kes. Selaku dosen penguji I dan II yang telah memberikan masukan, ilmu, arahan, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.

4. Ibu (Widiastuti), Bapak (Nugraha), Adek (Daffa) dan segenap keluarga atas kasih sayang, doa, dukungan, dan motivasi tiada henti kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka penulis mengharapkan kritik dan saran demi kebaikan akan skripsi ini. Akhir kata penulis mohon maaf atas semua kesalahan baik disengaja maupun tidak dan semoga karya ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

*Wassalamu'alaikum wr.wb.*

Semarang, 20 November 2021



Septian Arief Nur Rahman



## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Septian Arief Nur Rahman

NIM : 30101800163

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

**PENGARUH KOMBINASI PROBIOTIK (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*) TERHADAP EKSPRESI TGF- $\beta$  PADA TIKUS MODEL KOLITIS**

**ULSERATIF**

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS))**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar karya tulis orang tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Semarang, 20 January 2022



**Septian Arief Nur Rahman**

## DAFTAR ISI

|                                                                                    |      |
|------------------------------------------------------------------------------------|------|
| LEMBAR PENGESAHAN .....                                                            | ii   |
| PRAKATA.....                                                                       | iii  |
| SURAT PERNYATAAN.....                                                              | v    |
| DAFTAR ISI.....                                                                    | viii |
| DAFTAR SINGKATAN .....                                                             | xi   |
| DAFTAR GAMBAR .....                                                                | x    |
| DAFTAR TABEL .....                                                                 | xi   |
| DAFTAR LAMPIRAN.....                                                               | xii  |
| BAB I.....                                                                         | 1    |
| PENDAHULUAN .....                                                                  | 1    |
| 1.1. Latar Belakang .....                                                          | 1    |
| 1.2. Rumusan masalah.....                                                          | 5    |
| 1.3. Tujuan.....                                                                   | 5    |
| 1.3.1. Tujuan Umum .....                                                           | 5    |
| 1.3.2. Tujuan Khusus .....                                                         | 5    |
| 1.4. Manfaat.....                                                                  | 6    |
| 1.4.1. Manfaat Teoritis .....                                                      | 6    |
| 1.4.2. Manfaat Praktis .....                                                       | 6    |
| BAB II.....                                                                        | 7    |
| TINJAUAN PUSTAKA .....                                                             | 7    |
| 2.1. <i>Transforming Growth Factor-Beta</i> (TGF- $\beta$ ) .....                  | 7    |
| 2.1.1. Definisi TGF- $\beta$ ( <i>Transforming Growth Factor-Beta</i> ) .....      | 7    |
| 2.1.2. Karakteristik TGF- $\beta$ ( <i>Transforming Growth Factor-Beta</i> ) ..... | 7    |
| 2.1.3. Pengaruh TGF- $\beta$ dalam Patomekanisme Kolitis Ulseratif.....            | 10   |
| 2.1.4 Kolitis Ulserative (KU).....                                                 | 12   |
| 2.1.5 Klasifikasi Kolitis Ulceratif .....                                          | 12   |
| 2.1.6 Faktor Resiko Kolitis Ulseratif .....                                        | 15   |
| 2.1.7 Etio-Patogenesis Kolitis Ulseratif .....                                     | 16   |

|                   |                                                                |    |
|-------------------|----------------------------------------------------------------|----|
| 2.1.8             | Diagnosis Kolitis Ulseratif.....                               | 18 |
| 2.1.9             | Tatalaksana Kolitis Ulseratif.....                             | 19 |
| 2.1.10            | Tikus Model Kolitis Ulseratif .....                            | 21 |
| 2.2.              | Probiotik.....                                                 | 23 |
| 2.2.1.            | Penentuan Efektifitas Probiotik.....                           | 24 |
| 2.2.2.            | <i>Bifidobacterium infantis</i> .....                          | 25 |
| 2.2.3.            | <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....                         | 26 |
| 2.2.4.            | Pengaruh Probiotik Terhadap Kolitis Ulceratif.....             | 28 |
| 2.3               | Kerangka Teori.....                                            | 31 |
| 2.4               | Kerangka konsep .....                                          | 31 |
| 2.5               | Hipotesis .....                                                | 32 |
| 2.5.1             | Hipotesis Mayor .....                                          | 32 |
| 2.5.2             | Hipotesis Minor.....                                           | 32 |
| BAB III           | .....                                                          | 33 |
| METODE PENELITIAN | .....                                                          | 33 |
| 3.1               | Jenis Penelitian.....                                          | 33 |
| 3.2               | Tempat dan waktu penelitian .....                              | 33 |
| 3.3               | Subyek Penelitian.....                                         | 33 |
| 3.3.1             | Kriteria inklusi .....                                         | 33 |
| 3.3.2             | Kriteria Ekslusi.....                                          | 34 |
| 3.4               | Besar Sampel .....                                             | 34 |
| 3.5               | Teknik Sampling .....                                          | 35 |
| 3.6               | Rancangan Penelitian .....                                     | 36 |
| 3.7               | Variabel dan Definisi Operasional .....                        | 37 |
| 3.7.1             | Variabel .....                                                 | 37 |
| 3.7.1.1           | Variabel bebas .....                                           | 37 |
| 3.7.1.2           | Variabel terikat .....                                         | 38 |
| 3.7.2             | Definisi Operasional .....                                     | 38 |
| 3.7.2.1           | Perlakuan .....                                                | 38 |
| 3.7.2.2           | Ekspresi TGF- $\beta$ .....                                    | 38 |
| 3.7.2.3           | Teknik Pembuatan Preparat dan pengecatan imunohistokimia ..... | 38 |
| 3.7.2.4           | Pemeriksaan Imunohistokimia .....                              | 41 |

|                                                                                                       |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.7.2.5 Teknik Pembacaan Slide .....                                                                  | 42 |
| 3.8 Alat dan Bahan .....                                                                              | 43 |
| 3.8.1 Alat.....                                                                                       | 43 |
| 3.8.2 Bahan Penelitian.....                                                                           | 43 |
| 3.9 Cara kerja .....                                                                                  | 43 |
| 3.9.1 Adaptasi tikus.....                                                                             | 43 |
| 3.9.2 Randomisasi .....                                                                               | 44 |
| 3.9.3 Induksi <i>Dextran Sodium Sulphate</i> (DSS).....                                               | 44 |
| 3.9.4 Perlakuan.....                                                                                  | 45 |
| 3.10 Analisis Data.....                                                                               | 46 |
| 3.11 Alur Penelitian .....                                                                            | 47 |
| BAB IV .....                                                                                          | 50 |
| HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....                                                                 | 50 |
| 4.1 Hasil Penelitian.....                                                                             | 50 |
| 4.1.1 Hasil Pemeriksaan Ekspresi TGF- $\beta$ 1 Sebelum dan Sesudah <i>Outlier</i><br>di Ekslusi..... | 52 |
| 4.2 Pembahasan .....                                                                                  | 55 |
| BAB V.....                                                                                            | 61 |
| KESIMPULAN DAN SARAN.....                                                                             | 61 |
| 5.1 Kesimpulan .....                                                                                  | 61 |
| 5.2 Saran.....                                                                                        | 61 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                                                                  | 63 |
| LAMPIRAN.....                                                                                         | 66 |

## DAFTAR SINGKATAN

|               |                                                         |
|---------------|---------------------------------------------------------|
| APC           | : <i>Antigen Presenting Cell</i>                        |
| CFU           | : <i>Colony Forming Unit</i>                            |
| DC            | : <i>Dendritic cell</i>                                 |
| DSS           | : <i>Dextran Sodium Sulphate</i>                        |
| FOXP3         | : <i>Forkhead Box P3</i>                                |
| GARP          | : <i>Glikoprotein-A repetitions predominant protein</i> |
| IBD           | : <i>Inflammatory Bowel Disease</i>                     |
| IFN           | : <i>Interferon</i>                                     |
| IFN- $\gamma$ | : <i>Interferon gamma</i>                               |
| IL-1          | : <i>Interleukin-1</i>                                  |
| IL-10         | : <i>Interleukin-10</i>                                 |
| IL-17         | : <i>Interleukin-17</i>                                 |
| KU            | : <i>Kolitis Ulseratif</i>                              |
| LAP           | : <i>Latency-associated peptide</i>                     |
| MALT          | : <i>Mucosa Associated Lymphoid</i>                     |
| MHC           | : <i>Major Hystocompatibility Complex</i>               |
| TGF- $\beta$  | : <i>Transforming Growth Factor-Beta</i>                |
| Th0           | : <i>T Helper 0</i>                                     |
| Th1           | : <i>T Helper 1</i>                                     |

|               |                                      |
|---------------|--------------------------------------|
| Th17          | : <i>T Helper 17</i>                 |
| Th2           | : <i>T Helper 2</i>                  |
| TLR           | : <i>Toll-like Receptor</i>          |
| TNF- $\alpha$ | : <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i> |
| Treg          | : <i>T regulator</i>                 |



## DAFTAR GAMBAR

|                                                                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Gambar 2.1</b> Aktivasi TGF- $\beta$ .....                                                                                               | 9  |
| <b>Gambar 2.2</b> Sistem kekebalan mukosa.....                                                                                              | 10 |
| <b>Gambar 2.3</b> Klasifikasi UC Montreal.....                                                                                              | 14 |
| <b>Gambar 2.4</b> Imunologi Radang Usus .....                                                                                               | 18 |
| <b>Gambar 2.5</b> Bifidobacterium infantis .....                                                                                            | 26 |
| <b>Gambar 2.6</b> Lactobacillus acidophilus .....                                                                                           | 28 |
| <b>Gambar 2.7</b> Kerangka Teori .....                                                                                                      | 31 |
| <b>Gambar 2.8</b> Kerangka Konsep.....                                                                                                      | 31 |
| <b>Gambar 4.1</b> Gambar Histologi Mukosa kolon Tikus dengan Pengecatan<br>Imunohistokimia menggunakan Perbesaran 40x .....                 | 51 |
| <b>Gambar 4.2</b> Box Plot Ekspresi TGF- $\beta$ 1 sebelum outlier di ekslusi .....                                                         | 52 |
| <b>Gambar 4.3</b> Box Plot Ekspresi TGF- $\beta$ 1 sesudah outlier di ekslusi .....                                                         | 53 |
| <b>Gambar 4.4</b> Pengaruh probiotik terhadap ekspresi TGF- $\beta$ 1 terdapat perbedaan<br>antar semua kelompok $P=0,05$ ( $p<0,05$ )..... | 54 |

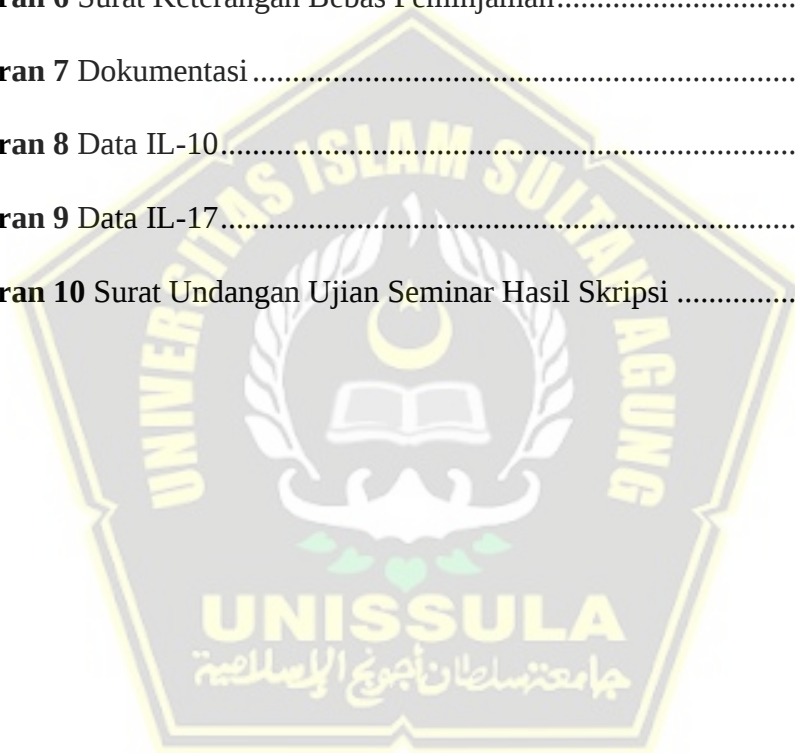
## DAFTAR TABEL

|                                                        |    |
|--------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabel 2.1</b> Skoring mayo .....                    | 13 |
| <b>Tabel 2.2</b> Skoring kolitis akut akibat DSS ..... | 23 |



## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Lampiran 1</b> Hasil analisis statistik .....                    | 66 |
| <b>Lampiran 2</b> Ethical clearance .....                           | 73 |
| <b>Lampiran 3</b> Surat Keterangan Penelitian .....                 | 74 |
| <b>Lampiran 4</b> Hasil Dari Perhitungan TGF- $\beta$ .....         | 75 |
| <b>Lampiran 5</b> Keterangan selesai penelitian.....                | 76 |
| <b>Lampiran 6</b> Surat Keterangan Bebas Peminjaman.....            | 77 |
| <b>Lampiran 7</b> Dokumentasi .....                                 | 78 |
| <b>Lampiran 8</b> Data IL-10.....                                   | 80 |
| <b>Lampiran 9</b> Data IL-17.....                                   | 82 |
| <b>Lampiran 10</b> Surat Undangan Ujian Seminar Hasil Skripsi ..... | 84 |



## INTISARI

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang jika dikonsumsi dalam jumlah tepat akan memberikan dampak positif bagi tubuh inang (*host*). *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* merupakan koloni terbesar di saluran cerna yang bersifat menekan terhadap alergi dan inflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus Kolitis Ulseratif.

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Menggunakan 24 ekor tikus jantan galur Wistar. Tikus di randomisasi menjadi 4 kelompok : kelompok kontrol, kelompok dengan perlakuan kolitis ulseratif, kelompok perlakuan kolitis ulseratif diberi terapi 5-ASA, perlakuan kolitis ulseratif dengan kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*). Ketiganya diberi perlakuan selama 8 hari. Jaringan kolon diambil pada hari ke-18. Kemudian dilakukan pengecatan imunohistokimia untuk dilihat ekspresi TGF- $\beta$ . Data diuji menggunakan uji *Kruskal Wallis*.

Rerata ekspresi TGF- $\beta$  pada kelompok kontrol ( $1 \pm 0,01$ ), kelompok dengan perlakuan kolitis ulseratif ( $10 \pm 12,59$ ), kelompok perlakuan kolitis ulseratif diberi terapi 5-ASA ( $5,5 \pm 5,1$ ), kelompok perlakuan kolitis ulseratif dengan kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*) ( $1 \pm 0,54$ ). Pada uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai  $p=0,005$  ( $p<0,05$ ). Analisis *Man Whitney* terdapat perbedaan ( $p=0,002$ ) pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan kolitis ulseratif, terdapat perbedaan ( $p=0,036$ ) pada kelompok perlakuan kolitis ulseratif dengan kelompok perlakuan kolitis ulseratif diberi terapi 5-ASA, terdapat perbedaan ( $p=0,007$ ) pada kelompok perlakuan kolitis ulseratif dengan kelompok perlakuan kolitis ulseratif diberi kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*).

Pemberian kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*) berpengaruh terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus Kolitis Ulseratif.

**Kata kunci :** *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus acidophillus*, Ekspresi TGF- $\beta$ , Dextran Sodium Sulphate (DSS).

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Sampai saat ini belum ditemukan obat secara pasti untuk menangani penyakit KU. Pengobatan yang dilakukan selama ini hanya digunakan untuk menekan proses inflamasi pada KU dengan tujuan mengurangi gejala penyakit dan membantu mempertahankan remisinya. Golongan obat yang dapat membantu menangani masalah KU merupakan golongan imunosupresan seperti 5-aminosalicylic, adalimumab, azathioprine, certolizumab, methotrexate, dan natalizumab. Senyawa pada obat tersebut dapat mengatur sistem kekebalan tubuh dengan cara demediasi Th2 yang dapat meredam dari Th1, hal tersebut dapat menghasilkan sitokin antiinflamasi seperti TGF- $\beta$  dan IL-10 yang kemudian menghambat produksi sitokin proinflamasi. Akan tetapi obat-obatan tersebut memiliki kekurangan bila dikonsumsi dalam dosis tinggi. Karena obat dapat masuk ke dalam sel non spesifik tubuh yang akhirnya dapat menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan seperti nyeri kepala, ruam, dan demam (Fakhoury, Negrulj and Al-salami, 2014).

Insidensi Kolitis Ulseratif (KU) setiap tahunnya terus mengalami peningkatan yang sangat signifikan. Di Asia penyakit KU berkisar 1,25 – 1,51 kasus per 100.000 orang/tahun pada tahun 2017. Pada tahun 2019 pasien rawat inap di RS umum daerah Batang tercatat

bahwa dari 9.004 kasus ada sekitar 365 pasien yang menderita KU atau sekitar 4,05%. Pada tahun 2018 Dinas Kesehatan Kabupaten Karimun mencatat sekitar 1.879 kasus aktif KU. Pada tahun 2017 RS Elizabeth Situbondo mencatat 286 kasus aktif KU, sekaligus menempati posisi ke-3 kasus paling banyak di Rumah Sakit tersebut (Badan Pusat Statistik, 2019). Pada tahun 2017 tercatat 5.374 pasien aktif rawat jalan dengan kasus KU di RS umum daerah Bali (Suarjana, 2017).

Pada penderita Kolitis Ulseratif (KU) terdapat gangguan keseimbangan sistem imun yaitu antara sel Treg (regulator) dan efektor (Th1, Th17, dan Th2). Pada lamina propria kolon akan mengalami peradangan. Terjadi peningkatan limfosit dan sitokin berupa Th1 dan Th17 yang bersifat proinflamasi (Ordás *et al.*, 2012). Mekanisme tersebut melibatkan transformasi faktor pertumbuhan TGF- $\beta$  yang merupakan sitokin multifungsi yang diproduksi oleh banyak jenis sel mukosa, TGF- $\beta$  juga berfungsi untuk mengontrol pertumbuhan, diferensiasi, proliferasi, dan aktivasi sel imun ataupun nonimun dengan cara autokrin dan parakrin (Sedda *et al.*, 2015). Pada Gangguan sinyal TGF- $\beta$  yang terjadi di sel T dan sel dendritik akan menyebabkan KU secara spontan (Ihara, Hirata and Koike, 2017).

Pada beberapa penelitian telah membuktikan bahwa disbiosis bakteri berpengaruh pada timbulnya penyakit KU, disbiosis dapat terjadi akibat berkurangnya konsentrasi bakteri yang dapat

memproduksi asam lemak rantai pendek (*SCFA/Short Chain Fatty Acid*) yang memiliki peran dalam menjaga permeabilitas mukosa. Disbiosis akan menyebabkan peningkatan permeabilitas mukosa dan aktivasi sel T naif berupa pro inflamasi yang dipengaruhi oleh paparan ligan dan antigen *TLR (Toll-like Receptor)* bakteri (Utara *et al.*, 2021). Pada umumnya penderita KU akan mengalami diare yang berupa tinja disertai darah. KU pertama kali terdeteksi pada daerah rektum dan dapat meluas ke arah proksimal menuju kolon desenden, KU merupakan suatu kelainan yang mengakibatkan peradangan kronik pada mukosa kolon (Ordás *et al.*, 2012). Dari beberapa hasil penelitian didapatkan bahwa probiotik berperan aktif dalam peningkatan sistem kekebalan tubuh. Probiotik juga mampu untuk meningkatkan kekebalan imunitas nonspesifik (Widiyaningsih, 2016).

Probiotik dapat mempengaruhi sistem imun di saluran cerna, terlebih pada probiotik *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* dikarenakan keduanya merupakan koloni terbesar di saluran cerna yang bersifat menekan terhadap alergi dan inflamasi. *Lactobacillus* dapat menginduksi  $TGF-\beta$  yang berperan dalam penghambatan produksi IL-4 dan IL-5 (*down regulating*) supaya tidak timbul badai sitokin. *Bifidobacterium* dapat menginduksi produksi sitokin dengan cara berikatan dengan makrofag, sel epitel, dan sel dendritik pada proses adhesi. Pada saat terdapat alergi atau autoimun sel T naif akan menjadi Th2 dan Th17 kemudian akan menginduksi keluarnya sitokin

IL-4 dan IL-17 (Widiyaningsih, 2016). Probiotik mampu memperkuat sistem imun pada mukosa, dengan cara melakukan induksi aktif dalam respon imunologi yang mempengaruhi pada sistem imun innate kemudian terjadi peningkatan pada Treg yang membuat kondisi Th1 dan Th2 dalam keadaan seimbang (Endaryanto and Harsono, 2010).

Pada penelitian yang dilakukan sebelumnya probiotik mampu memberi efek positif pada pasien yang menderita KU, probiotik memberi efek memperbaiki respon klinis dan mempersingkat waktu pemulihan KU secara signifikan. Terapi probiotik juga mampu mempertahankan proses perkembangan dari KU (Davide *et al.*, 2016). Pada kombinasi probiotik *Lactobacillus delbrueckii* dan *Lactobacillus fermentum* telah terbukti dapat mengurangi regulasi IL-6 dan TNF- $\alpha$  (Hegazy and El-Bedewy, 2010).

Dextran Sodium Sulphate (DSS) merupakan senyawa polisakarida sulfat yang dapat menginduksi kolitis pada hewan coba. Cara induksi kolitis lainnya adalah dengan pemberian asam asetat, formalin, indometasin, dan *Trinitro Benzene Sulfonic Acid* (TNBS). Hewan coba yang biasa digunakan adalah tikus jantan galur Wistar. Pada induksi kolitis dengan DSS, hewan coba yang dipilih adalah galur Wistar jantan karena lebih sensitif terhadap paparan DSS dibandingkan tikus galur Wistar betina.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh

pemberian kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus Kolitis Ulseratif.

## 1.2. Rumusan masalah

Bagaimana pengaruh kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus Kolitis Ulseratif?

## 1.3. Tujuan

### 1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus Kolitis Ulseratif.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang tidak diberi perlakuan.
2. Mengetahui ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi DSS tanpa diberi terapi.
3. Mengetahui ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi DSS dan diberi terapi 5 ASA.
4. Mengetahui ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi DSS dan di beri perlakuan terapi kombinasi

probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*).

5. Mengetahui ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS) dan diberi terapi *Lactobacillus acidophillus*
6. Mengetahui ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS) dan diberi terapi *Bifidobacterium infantis*
7. Mengetahui perbedaan ekspresi TGF- $\beta$  pada masing-masing kelompok.

#### **1.4. Manfaat**

##### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Memberi manfaat mengenai pemberian kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) sebagai alternatif tatalaksana kolitis ulseratif.

##### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi DSS dan diharapkan dapat digunakan sebagai pertimbangan untuk penelitian selanjutnya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. *Transforming Growth Factor-Beta (TGF- $\beta$ )***

##### **2.1.1. Definisi TGF- $\beta$ (*Transforming Growth Factor-Beta*)**

TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor-Beta) merupakan suatu glikoprotein yang dikeluarkan dengan tujuan untuk meregulasi proliferasi, diferensiasi dan kematian dari berbagai sel. Produksi TGF- $\beta$  berhubungan dengan pasien yang mengalami alergi dan inflamasi sel eosinophil, biasanya pada pasien tersebut TGF- $\beta$  mengalami peningkatan. TGF- $\beta$  mempunyai korelasi dengan jumlah eosinofil jika TGF- $\beta$  mengalami penurunan maka jumlah eosinofil akan mengalami penurunan juga, TGF- $\beta$  memiliki peranan penting dalam autoimun, peradangan, dan kanker (Serra, 2002).

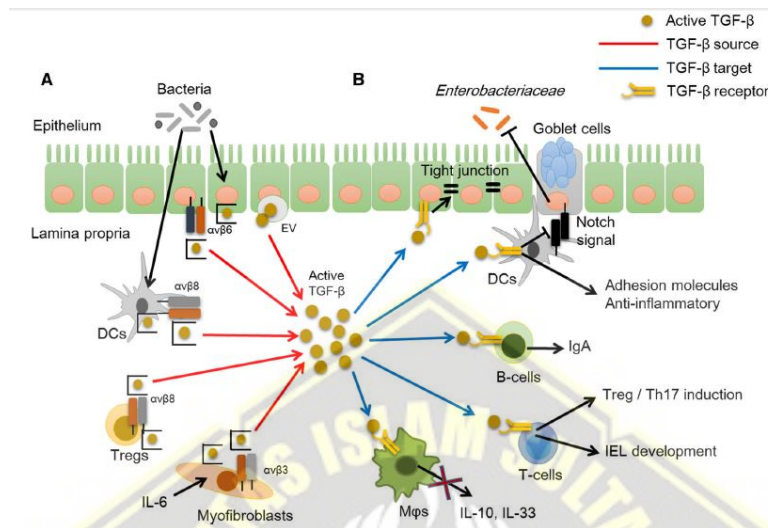
##### **2.1.2. Karakteristik TGF- $\beta$ (*Transforming Growth Factor-Beta*)**

TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor-Beta) terdeteksi cukup banyak pada usus manusia, terdapat tiga TGF- $\beta$  pada manusia: TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2, dan TGF- $\beta$ 3. TGF- $\beta$ 1 merupakan isoform yang paling banyak terdapat di usus dan paling banyak diteliti dibandingkan dengan TGF- $\beta$ 2 dan TGF- $\beta$ 3. TGF- $\beta$  di produksi oleh banyak tipe sel yaitu: sel epitel, sel imun, dan

fibroblast. Mekanisme lebih lanjut yang mendasari produksi TGF- $\beta$  masih harus lebih banyak dipelajari, namun pada penelitian sebelumnya disebutkan bahwa produksi TGF- $\beta$  disebabkan oleh berbagai faktor seperti virus, bakteri, sitokin, dan sel apoptosis (Ihara, Hirata and Koike, 2017).

Proses pembentukan dan aktivasi dari TGF- $\beta$  sangat dipengaruhi oleh *Glikoprotein-A repetitions predominant protein (GARP)*. *GARP* diekspresikan pada permukaan sel di mana awalnya dianggap sebagai reseptor docking hanya untuk TGF-laten  $\beta$ 1, TGF-laten  $\beta$ 2 dan TGF-laten  $\beta$ 3, dengan demikian *GARP* dapat mengikat ketiga TGF- $\beta$  isoform. Dalam proses aktivasi dan sekresi dari TGF- $\beta$ , *GARP* mempunyai peran yang cukup penting. TGF- $\beta$  disintesis sebagai protein homodimerik inaktif yang dipecah oleh protease tipe furin untuk menghasilkan TGF-matur. Pada tahap ini, molekul yang baru disintesis secara kovalen (melalui ikatan disulfida) dan non-kovalen terkait dengan LAP, disebut sebagai TGF-laten. *GARP* meningkatkan pro-TGF- $\beta$  pembelahan. Pelepasan TGF-matur yang aktif secara biologis membutuhkan pemisahan dan pelepasan dari LAP. integrin  $\alpha$ V $\beta$ 8 bertanggung jawab atas pelepasan TGF- $\beta$ . Studi terbaru menunjukkan bahwa di permukaan Treg, *GARP* berikatan dengan  $\alpha$ V $\beta$ 8 untuk melepaskan TGF-aktif (Metelli *et al.*, 2018). Dalam proses

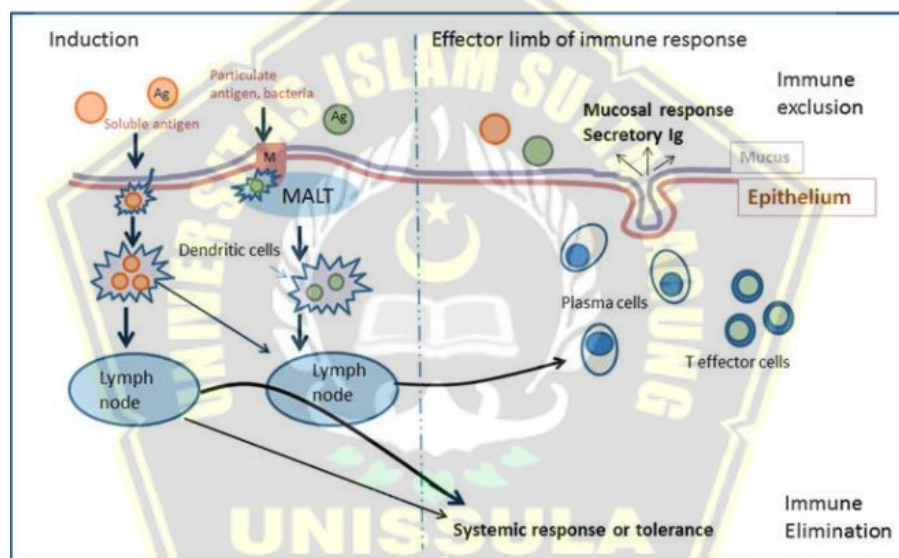
aktivasi TGF- $\beta$  dapat dipengaruhi oleh keberadaan sitokin-sitokin lain, plasmin, pH, ROS, trombospondin-1 (Aisyah and Jatmiko, 2019).



**Gambar 2.1** Aktivasi TGF- $\beta$  (Ihara, Hirata and Koike, 2017).

Permukaan mukosa yang berada di saluran usus memiliki fungsi seperti penyerapan, transportasi makromolekul, barier dan fungsi sekretorik. Tapi pada permukaan mukosa yang berukuran besar terdeteksi banyak terpapar antigen yang dapat mempengaruhi lingkungan, makanan, dan bakteri. Dengan demikian permukaan usus membentuk pertahanan responsif dan non-responsif untuk mengontrol keseimbangan yang ada di dalamnya. Komponen utama pertahanan pada mukosa usus ini di mediasi oleh limfosit T CD4<sup>+</sup>, sedangkan pada sel Th1 menghasilkan IFN dan TGF- $\beta$ , sel TH2 mensekresi IL-4, IL-5, IL-9 dan IL-13 (Markusf, 2002).

Masuknya antigen akan diperantarai oleh presentasi antigen dengan DC (*Dendritic cell*) yang menyebabkan aktivasi dan diferensiasi sel T. Setelah sel T bermigrasi keluar dari MALT dan mencapai mukosa serta jaringan nonmukosa perifer. Sel T mensekresikan sitokin dengan tujuan untuk menginduksi respon sel T supresif (IL-10 dan TGF-  $\beta$ ) atau Th1 dan Th2 mukosa dapat menghasilkan sitokin proinflamasi (Markusf, 2002).



**Gambar 2.2** Sistem kekebalan mukosa (Markusf, 2002)

### 2.1.3. Pengaruh TGF- $\beta$ dalam Patomekanisme Kolitis Ulseratif

TGF- $\beta$  (Transforming Growth Factor-Beta) mengalami peningkatan pada pasien yang sedang mengalami KU aktif terkhusus pada limfosit lamina propria. Pada penelitian

sebelumnya limfosit lamina propria yang disosiasi pada mukosa radang pasien KU menunjukkan peningkatan TGF- $\beta$ 1 dibandingkan dengan kontrol ketika distimulasi dengan CD2 dan CD28. TGF- $\beta$ 2 dan TGF- $\beta$ 3 juga terdeteksi mengalami peningkatan pada pasien dengan KU aktif. Eksperimen yang dilakukan pada tikus model kolitis yang diberi perlakuan menggunakan TGF- $\beta$  menunjukkan adanya peningkatan imunitas usus (Ihara, Hirata and Koike, 2017).

Pada Kolitis Ulseratif, penghalang epitel yang berfungsi sebagai pertahanan lini pertama di mukosa. Karena menyediakan pemisahan fisik antara imun dengan mikroba luminal dan sintesis peptida antimikroba mengalami kerusakan sehingga terjadi peningkatan permeabilitas. Karena hilangnya penghalang pertahanan lini pertama maka terjadi peningkatan penyerapan antigen luminal. Kerusakan pada penghalang ini menyebabkan invasi bakteri. Mikroorganisme juga memegang peranan penting dalam patogenesis KU dikarenakan gangguan keseimbangan antara imunitas mukosa inang dan mikroflora enterik menyebabkan respon imun yang menyimpang terhadap bakteri non-patogen komensal. Pengenalan antigen dapat mengaktifkan sistem imun bawaan melalui interaksi antara makrofag dan sel dendritik. Lamina propria yang menyediakan banyak makrofag dan sel dendrit yang dapat mengaktifasi

antigen ke sel B dan sel T, mengarah pada imun adaptif (Guandalini, 2019).

#### **2.1.4 Kolitis Ulserative (KU)**

Kolitis Ulseratif (KU) merupakan penyakit kronis yang belum banyak diketahui penyebabnya. Penyakit ini ditandai dengan adanya peradangan mukosa dan submukosa pada bagian rektum kemudian naik ke arah proksimal sampai ke kolon desenden. Derajat pada KU dibagi menjadi berat, sedang, dan ringan. Pada penderita KU serangan dapat dimulai berat maupun ringan namun akan bertambah gradual setiap minggu. Penilaian berat dan ringan serangan pada Kolitis Ulseratif dapat dinilai sesuai dengan kolon yang terlibat (Prostat *et al.*, 2014).

#### **2.1.5 Klasifikasi Kolitis Ulceratif**

Kolitis Ulseratif (KU) dapat ditentukan jenis pengobatannya dengan cara menentukan derajat keparahan dari penyakit tersebut. Penyakit KU ini dibedakan dalam tiga klasifikasi yaitu sistem skoring mayo, montreal, dan internasional menurut *American College of Gastroenterology* (ACG), *European Crohn's and Colitis Organization* (ECCO) dan *Japanese Society of Gastroenterology* (Liu and Stappenbeck, 2016).

##### **a. Klasifikasi Mayo**

Teknik skoring mayo ini dapat dinilai menggunakan skor 0 hingga 12. Keparahan dapat ditentukan berdasarkan skor tersebut. Angka 0 menunjukkan derajat KU yang ringan dan angka 12 menunjukkan derajat KU yang berat. Untuk menentukan skor tersebut dapat dinilai dari pemeriksaan fisik, manifestasi klinis, dan pemeriksaan endoskopi yang penilalianya menggunakan tabel berikut :

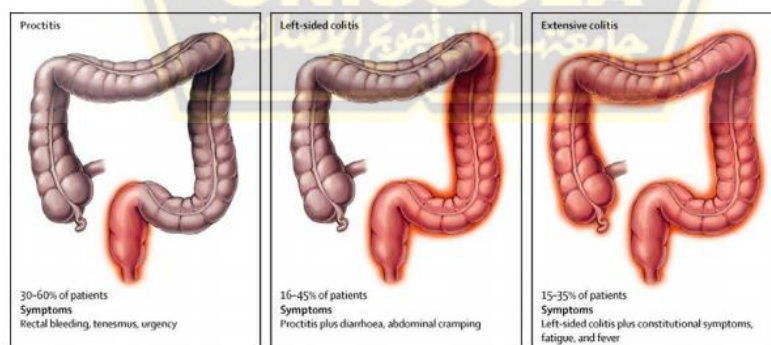
**Tabel 2.1** Skoring mayo

| Index              | 0         | 1                 | 2                             | 3                                    |
|--------------------|-----------|-------------------|-------------------------------|--------------------------------------|
| Frekuensi defekasi | Normal    | 1-2 kali per hari | 3-4 kali per hari             | 5 kali per hari                      |
| Pendarahan rektal  | Tidak ada | Bercak darah      | Ditemukan darah pada feses    | Hanya darah                          |
| Mukosa             | Normal    | Kerapuhan         | Kerapuhan sedang dengan erosi | Ulcerasi disertai pendarahan spontan |
| Interpetasi        | Normal    | Ringan            | Sedang                        | Berat                                |

b. Klasifikasi Montreal

Pada klasifikasi montreal untuk menilai tingkat keparahan penderita KU ini dapat dilihat dari luas lesi pada lapisan kolon. Berikut klasifikasi KU menurut montreal :

1. E1 (*Ulcerative Proctitis*) pada tahap E1 lesi masih dalam batas rektum, biasanya manifestasi yang terlihat berupa *tenesmus*, tinja disertai bercak darah.
2. E2 (*Left-sided UC*) pada tahap E2 lesi sudah mulai menyebar dimulai dari rektum sampai *flexura coli sinistra*, biasanya manifestasi yang terlihat berupa kram perut.
3. E3 (*Extensive UC/Pancolitis*) pada tahap E3 persebaran lesi dimulai dari rektum menuju ke arah *proximal flexura coli dextra* atau seluruh kolon, biasanya manifestasi yang terlihat berupa demam, gejala konsitusional, dan juga kelelahan.



**Gambar 2.3** Klasifikasi UC Montreal (Ho, Porter and Kalla, 2020).

c. Klasifikasi derajat keparahan Internasional

Pada klasifikasi Internasional dibedakan menjadi tiga kategori yaitu ringan, sedang, dan berat. Berikut klasifikasi menurut internasional:

1. Ringan (*Mild*) pada fase ringan tinja jarang disertai darah, defekasi tidak lebih dari 4 kali sehari, nyeri masih ringan.
2. Sedang (*Moderate*) pada fase sedang defekasi minimal 4 kali sehari bahkan bisa lebih dalam sehari, feses sudah disertai dengan darah namun belum di temukanya tanda-tanda penurunan berat badan.
3. Berat (*Severe*) dalam fase berat defekasi minimal 6 kali sehari bahkan lebih, penurunan berat badan sudah mulai terlihat, abdomen terasa nyeri berat, ada juga tanda-tanda anemia.

#### **2.1.6 Faktor Resiko Kolitis Ulseratif**

Faktor genetik berpengaruh dalam timbulnya penyakit KU, dalam sebuah penelitian sekitar 8-14% penderita KU memiliki anggota keluarga dan kerabat yang menderita penyakit KU. Faktor lingkungan juga sangat mempengaruhi tingkat kejadian KU, orang yang tinggal di perkotaan akan memiliki resiko lebih tinggi terserang penyakit ini, perubahan pola makan, konsumsi antibiotik, kebersihan yang lebih baik, dan lebih sedikit

infeksi, semua itu dikatakan sebagai faktor penyebab umum terjadinya KU. Di sebuah penelitian di Cina individu yang memiliki riwayat pernah merokok memiliki peluang lebih besar terserang KU. Disfungsi epitel berpengaruh pada gangguan penghalang epitel sebagai faktor patogenik untuk KU (Porter, Kalla and Ho, 2020).

### 2.1.7 Etio-Patogenesis Kolitis Ulseratif

Etiologi dari kolitis ulseratif belum dapat dijelaskan secara pasti, akan tetapi dari beberapa penelitian sebelumnya faktor lingkungan, mikroba usus, kerentanan genetik, dan respon imun menjadi faktor utama dalam timbulnya KU.

#### a. Lingkungan

Pengaruh gaya hidup seseorang dapat meningkatkan resiko timbulnya penyakit KU, seperti penggunaan antibiotik, paparan polusi, infeksi dan stres. Diet tinggi n-3 asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) dan diet tinggi daging merah dinilai mampu sebagai faktor proteksi KU (Kurniati, 2016).

#### b. Mikroba usus

Mikroba merupakan kumpulan dari bakteri yang hidup pada tubuh inang (*host*). Salah satu faktor

timbulnya KU diperantarai oleh disbiosis mikroba yang terjadi di dalam kolon. Mikroba dapat meningkatkan sistem imun di dalam tubuh manusia terutama pada daerah kolon dikarenakan mikroba mampu untuk meningkatkan respon imun spesifik dan non spesifik dengan cara meregulasi makrofag. Disbiosis mikroba di dalam kolon menyebabkan disfungsi epitel yang selanjutnya meningkatkan kerentanan terhadap KU (Kurniati, 2016).

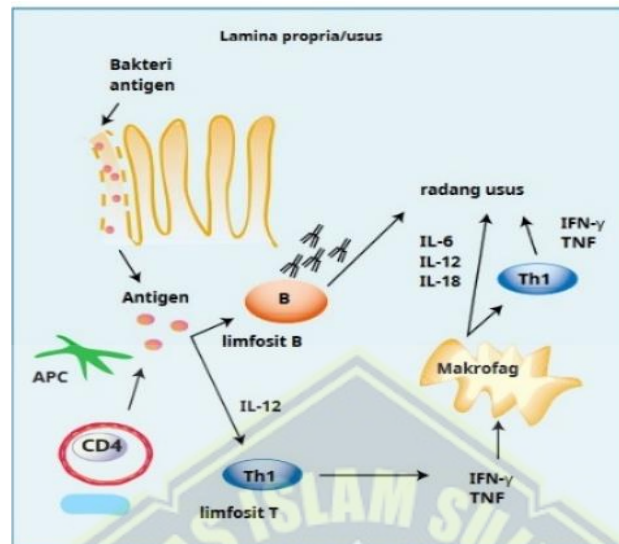
c. Genetik

Defek pada epitel barrier, neutrofil, sel T, sel B, dan sel Treg dinilai menjadi penyebab genetik timbulnya KU, pada hiperinflamasi dan autoinflamasi lainnya juga menjadi faktor utama timbulnya penyakit KU (Kurniati, 2016).

d. Respon imun

Respon inflamasi pada pasien penderita KU disebabkan karena terjadi disfungsi pada jalur sistem imun bawaan dan adaptif. *Toll like receptor* (TLR) pada sistem imun bawaan terdeteksi mengalami perubahan di permukaan sel. Ketidak seimbangan antara sel Treg dan sel T efektor menjadi pemicu timbulnya KU. Penurunan pada sel Treg menyebabkan sel T efektor menjadi

berlebihan sehingga memicu timbulnya penyakit KU (Kurniati, 2016).



**Gambar 2.4** Imunologi Radang Usus (Markusf, 2002).

### 2.1.8 Diagnosis Kolitis Ulseratif

Untuk menegakkan diagnosis penyakit KU dapat dengan menggabungkan beberapa pemeriksaan dan menilai dari beberapa gejala seperti manifestasi klinis, temuan endoskopi, pemeriksaan feses sigmoidoskopi, kolonoskopi, pemeriksaan MRI, dan biopsi (Liu and Stappenbeck, 2016).

- **Endoskopi**

Pada penderita KU endoskopi menjadi pilihan utama sebagai penegakkan diagnosis, endoskopi

merupakan *gold-standard* untuk membantu penegakan diagnosis.

- **Pemeriksaan Laboratorium**

Pemeriksaan laboratorium digunakan untuk memantau dan menilai aktifitas KU dengan cara menilai hasil dari pemeriksaan protein C-reaktif, pemeriksaan hitung darah lengkap, pemeriksaan feses dan laju endap darah (LED).

- **Serologi**

Pemeriksaan serologi dapat ditegakkan melalui pengambilan antibodi dari antibodi *perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies* (p-ANCA) dan *anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies* (ASCA).

- **Radiologi**

Pemeriksaan ini sebatas untuk menyingkirkan komplikasi yang sering terjadi pada penderita KU.

### 2.1.9 Tatalaksana Kolitis Ulseratif

Pengobatan KU dapat disesuaikan dengan derajat keparahan dan komplikasi dari penyakit ini. KU dapat di terapi dengan pemberian mesalamine dikenal juga dengan sebutan *5-aminosalicylic*, obat ini dapat diberikan secara

oral atau intra rektum dalam bentuk supositoria, busa, dan enema. Pemberian mesalamine intra rektum lebih dianjurkan karena efektif mengurangi remisi penyakit, pemberian intra rektal juga memiliki efektifitas 100 kali lebih tinggi pada tempat peradangan dibandingkan dengan pemberian secara oral. Pemberian kombinasi intra rektal dan oral dinilai lebih baik karena secara langsung akan mengurangi induksi remisi dan untuk terapi pemeliharaan. Pasien dengan KU diberikan kombinasi obat mesalamine oral dengan dosis 3 gr/hari dengan enema atau busa mesalamine. Glukokortikoid juga dapat diberikan pada penderita KU dengan derajat akut sampai dengan parah. Pemberian glukokortikoid dinilai lebih efektif melalui intravena dibandingkan dengan intra oral, namun obat steroid ini hanya bisa diberikan dalam jangka pendek karena dapat memberikan efek samping ketergantungan (Kucharzik *et al.*, 2020).

Agen anti-TNF biasanya diberikan dengan kombinasi tiopurin dengan tujuan untuk mempertahankan remisi dari KU, antibodi anti-TNF biasanya diberikan secara intra vena maupun subkutan. Sebelum dimulainya terapi anti-TNF harus dilakukan tes hepatitis B kronis dan TBC, jika ada salah satu indikasi dari penyakit tersebut

maka harus konsultasi dengan dokter spesialis untuk direkomendasikan menjalani terapi agen anti-TNF. Vedolizumab merupakan salah satu obat molekul adhesi selektif inhibitor yang telah disetujui oleh *Food and Drug Administration* sebagai penghambat adhesi pertama selektif yang dapat digunakan pada KU sedang sampai berat, ketika terapi standar mengalami kegagalan. Vedolizumab merupakan antibodi monoklonal yang menghambat molekul adhesi dan memblokir migrasi leukosit. Pembedahan juga merupakan suatu terapi yang ditujukan kepada pasien yang mengalami megakolon toksik, perforasi, pendarahan yang tidak terkendali, dan kegagalan terapi medis (ketergantungan kortikosteroid), operasi yang disarankan adalah kolektomi total dengan kantong Hartman, dapat juga dengan proktokolektomi total dengan ileostomi atau kantong ileum anastomosis anal (Lines, 2020).

#### **2.1.10 Tikus Model Kolitis Ulseratif**

Kolitis Ulseratif (KU) merupakan penyakit kronis yang belum banyak diketahui penyebabnya. Penyakit ini ditandai dengan adanya peradangan mukosa dan submukosa pada bagian rektum kemudian naik ke arah proksimal sampai ke kolon desenden. Derajat pada KU

dibagi menjadi berat, sedang, dan ringan. Pada penderita KU serangan dapat dimulai berat maupun ringan namun akan bertambah secara gradual setiap minggu. Penilaian berat dan ringan serangan pada Kolitis Ulseratif dapat dinilai sesuai dengan kolon yang terlibat (Prostat *et al.*, 2014).

DSS (dextran sodium sulphate) merupakan polisakarida yang bermuatan negatif dan dapat larut di dalam air, berat molekul dari DSS bervariasi mulai 5 sampai 1400 kDa. DSS dapat menginduksi terjadinya inflamasi pada lapisan usus. Hal ini dapat terjadi kerusakan pada lapisan tunggal epitel yang melindungi usus besar. Kerusakan tersebut dapat memicu penyebaran bakteri ke dalam jaringan yang rusak, sehingga terjadi KU (Chassaing *et al.*, 2015). DSS diberikan 2-5% secara berkala dan terus menerus sekitar 4-9 hari. DSS dapat menyebabkan degenerasi epitel, penipisan musin, dan nekrosis. DSS juga dapat mempengaruhi keseimbangan mikroflora usus (Perše and Cerar, 2012). Untuk menilai derajat kolitis bisa menggunakan skoring kolitis sebagai berikut:

**Tabel 2.2** Skoring kolitis akut akibat DSS(Martin, Bériou and Josien, 2016).

| Konsistensi<br>feses | Skor | Darah dalam<br>feses                                      |
|----------------------|------|-----------------------------------------------------------|
| Normal               | 0    | Tidak ada                                                 |
| Cair                 | 1    | Sedikit, di<br>dalam feses<br>dan/atau di<br>sekitar anus |
| Lunak                | 2    | Banyak                                                    |
| Diare berair         | 3    | -                                                         |

## 2.2. Probiotik

Mekanisme probiotik sendiri belum banyak diketahui secara pasti namun, jika probiotik yang diberikan dalam jumlah yang sesuai saat melewati sistem gastrointestinal probiotik tersebut akan berikatan pada mukosa dan mencegah perlekatan epitel bakteri patogen. Pada pengamatan bakteri *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* didapatkan kedua jenis bakteri tersebut menghasilkan asam propionat, asam laktat, asam asetat dimana kita telah mengetahui bahwa senyawa

tersebut dapat menurunkan pH dan dapat menghentikan proses pertumbuhan bakteri patogen (Islam, 2016).

Pada tikus Kolitis Ulseratif yang di beri terapi probiotik *Bifidobacterium infantis* dengan dosis  $6 \times 10^7$  CFU/hari, tidak memberi perubahan yang diharapkan. Akan tetapi pemberian dosis  $6 \times 10^8$  CFU/hari, dapat memberi efek yang bagus bagi tikus Kolitis Ulseratif, hal ini dapat dibuktikan dengan meningkatnya Treg yang menyebabkan berkurangnya sitokin terkait Th17 (IL-12p40, IL-17A, dan IL-21) dan Th1 (IL-2 dan IFN- $\gamma$ ) (Perše and Cerar, 2012).

#### **2.2.1. Penentuan Efektifitas Probiotik**

Adesi dibutuhkan probiotik sebagai syarat kolonisasi. Dengan kolonisasi probiotik mampu melakukan aktivitas antagonik terhadap enteropatogen, modulasi sistem imun dan kemampuan memperbaiki mukosa lambung. Probiotik yang melekat pada epitel usus kemudian membentuk kolonisasi dengan tujuan mempertahankan probiotik pada daerah usus supaya tidak terdegenerasi oleh kontraksi saluran cerna, kerusakan sel, dan gangguan mekanisme pengaturan sel. Probiotik yang melekat pada mukosa mempunyai peranan sebagai aktivasi sistem imun pada saluran cerna dan dapat menimbulkan interaksi spesifik antara dua permukaan yaitu adesi dan reseptor yang sesuai. Agregasi bakteri antara mikroorganisme dalam galur yang sama disebut *autoagregasi*

sedangkan antara galur yang berbeda disebut *coagregasi*. Kemampuan koagregasi pada *Lactobacillus* dinilai dapat menghambat kolonisasi bakteri patogen (Kusumo, 2010).

### 2.2.2. *Bifidobacterium infantis*

*Bifidobacterium infantis* adalah mikroba komersel yang diisolasi dari mukosa saluran cerna manusia dan telah dipelajari sebagai alternatif pengobatan KU. *Bifidobacterium infantis* dapat mengurangi jumlah sel Th1 dan Th17 kemudian meningkatkan proporsi Treg Foxp<sup>3+</sup> di dalam kolon pada tikus KU. *Bifidobacterium infantis* menghambat ekspresi Th17 terkait IL-17 dan menginduksi ekspresi IL-10 pada tikus kolitis yang diinduksi DSS dan penurunan sitokin proinflamasi Th1 (TNF- $\alpha$ , IL-12, dan IFN- $\gamma$ ) (Zuo *et al.*, 2014). Taksonomi :

Kingdom : *Bacteria*

Divisi : *Actinobacteria*

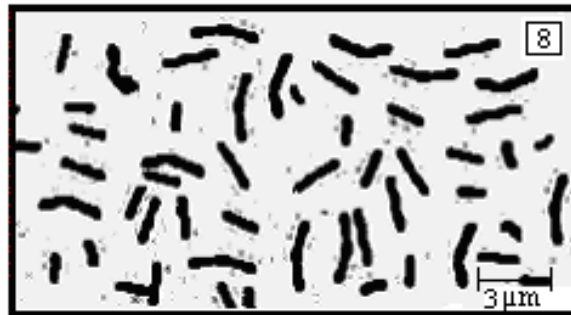
Kelas : *Actinobacteria*

Ordo : *Bifidobacteriales*

Genus : *Bifidobacterium*

Spesies : *Bifidobacterium longum*

Subspesies : *Bifidobacterium infantis*



**Gambar 2.5** *Bifidobacterium infantis* (Shigwedha, 2013).

### 2.2.3. *Lactobacillus acidophilus*

*L. acidophilus* merupakan mikroorganisme gram positif yang bersifat tidak motil, tidak bersporulasi, berbentuk bulat atau batang, hidup pada susu hingga saluran pencernaan. Mikroorganisme ini dapat memproduksi asam laktat sebagai produk akhir dari fermentasi. Bakteri ini dapat hidup pada pH 4-5. *L. acidophilus* termasuk dalam bakteri asam laktat, bakteri ini dapat memfermentasi gula dan menghasilkan produk akhir yang berupa asam laktat, hasil fermentasi tersebut disebut homofermentatif (Anjum *et al.*, 2014).

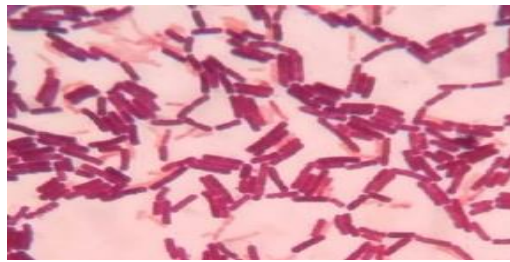
*Lactobacillus acidophilus* merupakan strain utama yang sangat efektif dalam mengurangi proses perjalanan penyakit KU dengan berbagai mekanisme termasuk modulasi inflamasi usus dan pemulihan mikroba usus. *Lactobacillus acidophilus* dapat menunjukkan modulasi dalam sitokin dan pemulihan ketebalan lendir. Proses induksi Treg melalui *Lactobacillus acidophilus* berhasil untuk menekan kolitis ulseratif (Kim, 2020).

Didapat dari penelitian sebelumnya *Lactobacillus acidophillus* dapat mengembalikan keseimbangan sitokin inflamasi dan sel Th17 atau Treg. *Lactobacillus acidophillus* dinilai mampu melemahkan KU dengan menekan sitokin proinflamasi di jaringan usus besar. *Lactobacillus acidophillus* dapat menginduksi sel Treg dan produksi IL-10 dan menekan produksi IL-17 (Park *et al.*, 2018).

Taksonomi :



Kingdom : *Bacteria*  
 Divisi : *Firmicutes*  
 Kelas : *Bacilli*  
 Ordo : *Lactobacillales*  
 Genus : *Lactobacillus*  
 Spesies : *Lactobacillus acidophilus*



**Gambar 2.6** *Lactobacillus acidophilus* (Putri *et al.*, 2018).

#### 2.2.4. Pengaruh Probiotik Terhadap Kolitis Ulceratif

Pemberian probiotik dapat mengembalikan keseimbangan mikrobiota yang terdapat di dalam usus dan menghilangkan lingkungan proinflamasi yang dihasilkan oleh mikrobiota yang tidak seimbang. Dalam sebuah penelitian yang dilakukan di Jepang terbukti bahwa probiotik mampu untuk mencegah kambuhnya KU pada derajat ringan. Pemberian suplementasi probiotik sangat membantu dalam mempertahankan remisi dan mencegah kekambuhan KU (Abraham and Quigley, 2018).

Sebagian besar sel yang memproduksi imunoglobulin terdapat pada lamina propria usus. Enterosit merupakan imunokompeten yang berperan aktif terhadap mikroorganisme hal ini dapat mengaktivasi MHC (*Major Histocompatibility Complex*) kelas I dan II, ekspresi molekul adhesi, penetrasi terhadap antigen terhadap limfosit, dan produksi sitokin. Makrofag dan sel dendritik juga memegang peran penting dalam reaksi antigen yang terjadi di dalam mukosa, sel

imunokompeten ini juga sensitif terhadap kehadiran mikroorganisme probiotik kemudian meningkatkan produksi IgA yang berperan langsung terhadap sistem imun mukosa (Djunaedi, 2013).

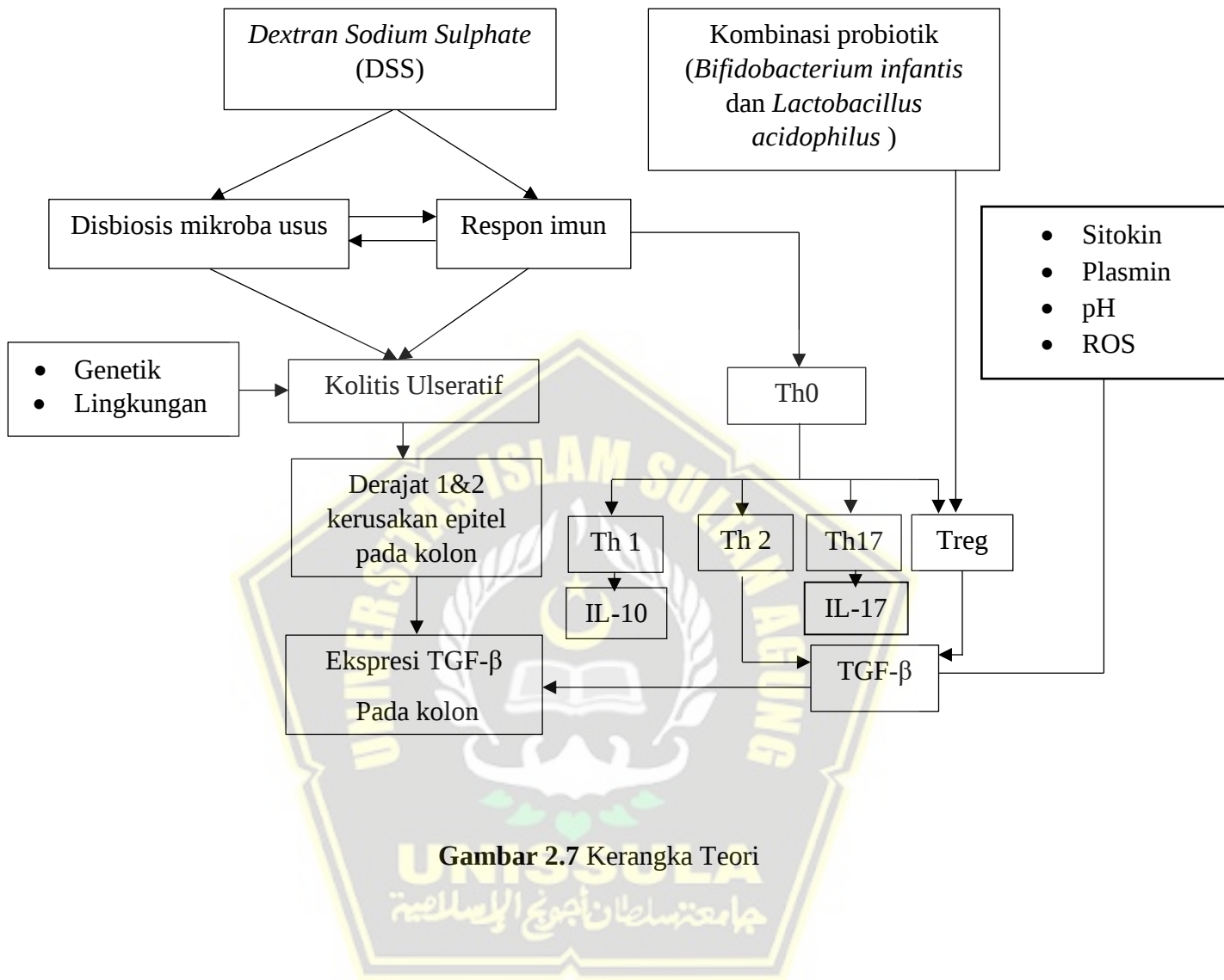
Mikroorganisme memerankan homeostasis yang terjadi di dalam usus dengan cara melakukan proteksi terhadap kerusakan epitel yang diatur oleh sistem sinyal TLR (*Toll Like Reseptor*). TLR (*Toll Like Reseptor*) dapat teraktivasi karena adanya *lipopolysaccharide*, flagellin, dan *lipoteichoic acid* yang selanjutnya akan mengaktivasi transkripsi nuklear faktor yang mempunyai potensi terhadap antiinflamasi berperan dalam mengatur proses inflamasi dalam usus (Djunaedi, 2013).

Uji coba probiotik yang dilakukan kepada hewan coba memberikan hasil yang menarik, *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus acidophilus* secara signifikan dapat meningkatkan aktivitas makrofag saat percobaan pada tikus. *Lactobacillus acidophilus* diketahui dapat menstimulasi proliferasi limfosit. *Lactobacillus species* memiliki kemampuan untuk menstimulasi IFN-  $\gamma$  dan IL-12 dan diikuti oleh peningkatan Th1 serta memperbaiki keseimbangan antara Th1 dan Th2. *Lactobacillus species* juga dikenal dapat meningkatkan ekspresi sitokin (TNF- $\alpha$ , IFN-  $\gamma$ , dan IL-1).

Probiotik juga mampu untuk meningkatkan respon imun spesifik dan non spesifik dengan cara meregulasi makrofag (Djunaedi, 2013).

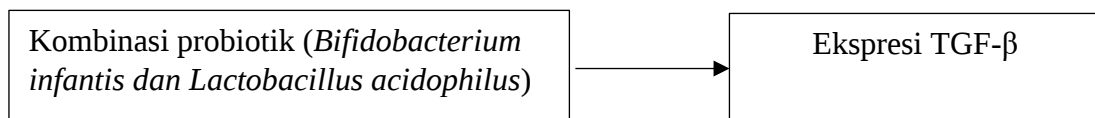


### 2.3 Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori

### 2.4 Kerangka konsep



Gambar 2.8 Kerangka Konsep

## 2.5 Hipotesis

### 2.5.1 Hipotesis Mayor

Terdapat pengaruh kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus Kolitis Ulseratif.

### 2.5.2 Hipotesis Minor

1. Pada tikus jantan galur Wistar yang tidak diberi perlakuan, ekspresi TGF- $\beta$  normal.
2. Pada tikus Kolitis Ulseratif tanpa diberi terapi, ekspresi TGF- $\beta$  meningkat.
3. Pada tikus Kolitis Ulseratif dan diberi terapi 5 ASA, ekspresi TGF- $\beta$  menurun.
4. Pada tikus Kolitis Ulseratif dan diberi terapi kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*), ekspresi TGF- $\beta$  menurun.
5. Pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS) dan diberi terapi probiotik *Lactobacillus acidophilus*, ekspresi TGF- $\beta$  menurun.
6. Pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS) dan diberi terapi probiotik *Bifidobacterium infantis*, ekspresi TGF- $\beta$  menurun.
7. Terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$  pada masing-masing kelompok.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian yang sedang dijalankan ini merupakan jenis penelitian experimental dengan menggunakan hewan coba berupa tikus jantan galur Wistar. Pengukuran yang digunakan pada penelitian ini adalah *post-test only control group design*. Dalam penelitian ini dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok eksperimen guna melihat pengaruh terhadap kelompok eksperimen.

#### **3.2 Tempat dan waktu penelitian**

Tempat pemeliharaan dan induksi hewan dilahkukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PAU) Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta. Waktu yang di perlukan dalam penelitian ini adalah 1 bulan (Agustus-September 2021).

#### **3.3 Subyek Penelitian**

Subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar, diperoleh dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi (PAU) Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta.

##### **3.3.1 Kriteria inklusi**

- Tikus jantan galur Wistar yang sehat. Tikus sehat merupakan tikus yang memiliki ciri-ciri bulu berwarna putih tidak kusam, kondisi mata bersinar, aktif dan nafsu makan baik (Kusumawati, 2014).

- Berumur 6-8 minggu
- Berat badan 150-200 gram

### 3.3.2 Kriteria Ekslusi

- Tikus dengan kelainan bawaan atau cacat fisik
- Tikus mati saat penelitian

### 3.4 Besar Sampel

Penelitian eksperimental yang di jalankan ini menggunakan sampel sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Wistar yang akan dibagi menjadi 4 kelompok yang di ambil secara acak atau random. Jumlah sampel yang pada penelitian eksperimental ini adalah 6 ekor. Rumus sampel yang digunakan adalah Rumus Frederer (1977) sebagai berikut :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3(n-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

n = jumlah populasi tikus dalam satu kelompok

### 3.5 Teknik Sampling

Sampel diambil menggunakan teknik *purposive sampling*, yaitu sampel didapatkan dengan cara mengambil anggota populasi yang tersedia. Sampel dapat diperoleh dengan cara memesan atau membeli sejumlah tikus jantan galur Wistar dari populasi dengan kriteria yang sudah ditentukan seperti pada kriteria inklusi.

Sampel penelitian dibagi secara random sebanyak 4 kelompok, dengan masing-masing terdiri dari 6 tikus, yaitu :

1. Kelompok kontrol (K I) adalah kelompok yang tidak diberi perlakuan.
2. Kelompok perlakuan I (K II) adalah kelompok tikus yang diinduksi DSS tanpa diberi perlakuan.
3. Kelompok perlakuan II (K III) adalah tikus yang diinduksi DSS dan diberi terapi 5-ASA.
4. Kelompok perlakuan III (K IV) adalah kelompok tikus yang diinduksi DSS dan diberi terapi kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*).
5. Kelompok perlakuan IV (K V) adalah kelompok tikus jantan galur Wistar yang diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS) dan diberi terapi probiotik *Lactobacillus acidophilus*.
6. Kelompok perlakuan V (K VI) adalah kelompok tikus jantan galur Wistar yang diinduksi Dextran Sodium Sulphate (DSS) dan diberi terapi probiotik *Bifidobacterium infantis*.

### 3.6 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian berupa *the post-test only control group design*.

K I :  $(X_0) \rightarrow O_0$

K II :  $(X_1) \rightarrow O_1$

K III :  $(X_2) \rightarrow O_2$

K IV :  $(X_3) \rightarrow O_3$

K V :  $(X_4) \rightarrow O_4$

K VI :  $(X_5) \rightarrow O_5$

Keterangan :

K I : Kelompok kontrol tanpa diberi perlakuan

K II : Kelompok tikus yang diberi perlakuan I

K III : Kelompok tikus yang diberi perlakuan II

K IV : Kelompok tikus yang diberi perlakuan III

K V : Kelompok tikus yang diberi perlakuan IV

K VI : Kelompok tikus yang diberi perlakuan V

$X_0$  : Tanpa perlakuan

$X_1$  : Perlakuan dengan DSS (tikus jantan galur Wistar model kolitis ulseratif)

- X<sub>2</sub> : Tikus jantan galur Wistar model kolitis ulseratif + terapi 5-ASA
- X<sub>3</sub> : Tikus jantan galur Wistar model kolitis ulseratif + *Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*
- X<sub>4</sub> : Tikus jantan galur Wistar model kolitis ulseratif + *Lactobacillus acidophillus*
- X<sub>5</sub> : Tikus jantan galur Wistar model kolitis ulseratif + *Bifidobacterium infantis*
- O<sub>0</sub> : Pengamatan hasil kelompok kontrol
- O<sub>1</sub> : Pengamatan hasil pada kelompok kolitis ulseratif
- O<sub>2</sub> : Pengamatan hasil pada kelompok kolitis + terapi 5-ASA
- O<sub>3</sub> : Pengamatan hasil pada kelompok kolitis ulseratif + *Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophillus*.
- O<sub>4</sub> : Pengamatan hasil pada kelompok kolitis ulseratif + *L.acidophillus*
- O<sub>5</sub> : Pengamatan hasil pada kelompok kolitis ulseratif + B.infantis

### 3.7 Variabel dan Definisi Operasional

#### 3.7.1 Variabel

##### 3.7.1.1 Variabel bebas

- a) Perlakuan

### 3.7.1.2 Variabel terikat

a) Ekspresi TGF- $\beta$

## 3.7.2 Definisi Operasional

### 3.7.2.1 Perlakuan

Perlakuan dikategorikan menjadi 3 perlakuan :

1. Perlakuan I hanya diberi DSS
2. Perlakuan II diberi DSS dan terapi 5-ASA
3. Perlakuan III diberi DSS dan terapi kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*).

### 3.7.2.2 Ekspresi TGF- $\beta$

Ekspresi TGF- $\beta$  diukur dengan cara menghitung ekspresi TGF- $\beta$  menggunakan blok parafin yang diambil dari kolon descendens, kolon sigmoid, dan rektum kemudian di cat menggunakan menggunakan imunohistokimia dibaca di bawah mikroskop Olympus CX43 dengan perbesaran 40x menggunakan metode Hot spot dilihat pada proporsisel dan Intensitas, dengan skala data rasio (Imai *et al.*, 2013).

### 3.7.2.3 Teknik Pembuatan Preparat dan pengecatan imunohistokimia

Berikut cara membuat preparat histopatologis kolorektal dan dilakukan pengecatan IHC (Ambrogi, 1960; Muthmainah, 2011).

- a. Jaringan kolorektal diambil.
- b. Jaringan kolorektal difiksasi atau direndam menggunakan formalin *buffer*  $\pm$  3 jam.
- c. *Dehidrasi*

Jaringan kolorektal direndam dalam alkohol 70% selama satu malam, dilanjutkan dalam alkohol 80% tiap-tiap jaringan 3 kali 30 menit, alkohol 90% tiap-tiap jaringan 3x 30 menit dan alkohol 96% tiap-tiap jaringan 2x 15 menit.

- d. *Clearing*.

Preparat kolorektal dimasukkan ke *xylol*  $\pm$  15 menit.

- e. *Embeding*.

Preparat kolorektal dimasukkan lalu didiamkan pada *xylol* yang dicampur paraffin  $\pm$  12 jam dengan suhu ruangan, sebanyak 4x preparate kolorektal direndam  $\pm$  15 menit pada

paraffin. *Embeding* merupakan tahap akhir dari pembentukan preparate kolorektal yang berbentuk blok, langkahnya sebagai berikut direndam dengan paraffin cair kemudian diamkan hingga membeku setelah itu terbentuk blok keras sehingga mudah untuk proses menggunakan mikrotom.

- f. Pada masing-masing blok parafin dibagi menjadi tiga irisan jaringan kolorektal dengan 3– 4  $\mu$ m pada setiap ketebalan irisan.
- g. Setelah diiris kemudian letakkan pada permukaan air hangat, kemudian letakkan pada objek glass dengan lapisan albumin gliserin pada permukannya sampai berbentuk slide.
- h. Prepare kolorektal kemudian dimasukkan dalam suhu  $37^{\circ}\text{C} \pm 12$  jam agar irisan terbentuk sempurna.
- i. Hilangkan parafin merendam pada *xylol* 2x 15 menit pada prepare kolorektal.
- j. *Slide* secara berturut-turut dicelupkan dalam waktu singkat ke larutan alkohol yaitu dari alkohol 96%, 90%, 80%, 70% dan akhirnya alkohol 60%.
- k. *Slide* dicelupkan ke aquades selama 3 -5 menit.
- l. Lakukan perendaman pada *hematoxylin*  $\pm$  5 menit.
- m. Masukkan *slide* pada alkohol 60 %.
- n. Rendam menggunakan *eosin*  $\pm$  5 menit.
- o. Masing-masing *slide* dimasukkan secara singkat kedalam larutan alkohol 60%, 90% dan 96%.
- p. Selanjutnya masuk dalam tahap *clearing* dengan melakukan perendaman preparat kolorektal  $2x \pm 15$  menit.

- q. Kemudian tutup preparat menggunakan *deck glass* rekatkan menggunakan *canada balsem*.
- r. Amati dibawah mikroskop.

#### 3.7.2.4 Pemeriksaan Imunohistokimia

- a. FFPE dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3 mikron dan di letakkan pada objek glass
- b. Keringkan menggunakan suhu ruangan kemudian panaskan di suhu  $60^{\circ}\text{C} \pm 30$  menit
- c. Masukkan preparat ke *xylol* sebanyak 3 kali 5 menit kemudian rehidrasi menggunakan alcohol absolut, 96%, dan 70% selama 4 menit
- d. *pre-treatment* dengan Tris EDTA pH 9,0 menggunakan *pressure cooker* pada suhu  $95^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit, dinginkan selama 30 menit
- e. cuci dengan PBS selama 2 menit dan inkubasi selama 10 menit
- f. cuci dengan PBS selama 2 menit dan inkubasi selama 5 sampai 10 menit
- g. cuci dengan PBS selama 30 detik inkubasi selama 30 menit
- h. cuci dengan PBS selama 4 menit dan inkubasi selama 10 menit
- i. cuci dengan PBS selama 3 menit sebanyak 2 kali

- j. campurkan dengan 1 mL DAB kemudian inkubasi dengan DAB selama 5 menit
- k. cuci dengan air mengalir selama 5 menit dilanjutkan *ounterstain* menggunakan Hematoxylin selama 2-3 menit
- l. Sediaan dicuci dengan air mengalir selama 3 menit kemudian direndam dengan bluing reagen selama 5-10 detik
- m. Sediaan dicuci dengan air mengalir selama 2 menit kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan memasukkan preparat ke dalam alkohol bertingkat, 50%, 70%, 96%, dan 100%, masing-masing sebanyak 3 celup
- n. Proses dilanjutkan dengan *clearing* menggunakan xylol dan kemudian dilakukan *mounting* dengan Entellan dan ditutup dengan *cover glass*.

#### 3.7.2.5 Teknik Pembacaan Slide

Letakkan preparat kolorektal dibawah mikroskop Olympus CX43 cahaya keudian amati. Liat preparate dengan perbesaran 100x (lensa *objective* 10x, lensa *ocular* 10x) agar dapat melihat letak kolorektal yang akan diinterpretasi. Pembacaan mikroskop dapat dengan perbesaran 400x (lensa *objective* 40x, lensa *ocular* 10x).

### 3.8 Alat dan Bahan

#### 3.8.1 Alat

Alat yang digunakan meliputi :

- a. Alat suntik
- b. Alat bedah hewan ( Scapel, pinset, gunting)
- c. Alat pembuatan preparate colorectal
- d. Mikroskop cahaya OLYMPUS CX21

#### 3.8.2 Bahan Penelitian

- a. Dextran Sodium Sulphate (DSS) 5%
- b. Bahan pembuatan preparat kolon
- c. Pengecatan Hematoxylin Eosin (HE)
- d. Pengecatan *Periodic Acid Schiff* (PAS)
- e. Buffer Formalin 10%
- f. *Bifidobacterium Infantis* dengan dosis  $1 \times 10^9$  CFU/200g berat badan dilarutkan dalam 1 mL air
- g. *Lactobacillus Acidophillus* dengan dosis  $1 \times 10^9$  CFU/200g berat badan dilarutkan dalam 1 mL air

### 3.9 Cara kerja

#### 3.9.1 Adaptasi tikus

- a. Tikus jantan galur Wistar yang berusia 6-8 minggu diadaptasikan terlebih dahulu selama satu minggu di laboratorium dengan suhu berkisar antara  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .
- b. Tiap kelompok tikus ditempatkan dalam satu kandang.

- c. Setiap hari dilakukan penimbangan berat badan pada masing-masing tikus jantan galur Wistar.
- d. Tikus diberi makan berupa makanan standart dan minuman berupa air *ad libitum*.

### 3.9.2 Randomisasi

- a. Masing-masing tikus diberi identitas berupa nomor di bagian punggung menggunakan spidol.
- b. Dilakukan pengambilan nomor secara acak.
- c. Tikus yang telah dipilih secara acak, dimasukkan ke dalam kelompoknya. Kelompok kontrol (K I) yang nantinya tidak mendapat perlakuan; kelompok perlakuan I (K II) yang nantinya diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) tanpa diberi terapi; kelompok perlakuan II (K III) yang nantinya diinduksi DSS dan diberi terapi 5-ASA; dan kelompok perlakuan III (K IV) yang nantinya diinduksi DSS dan diberi terapi kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*).

### 3.9.3 Induksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS)

- a. Setelah itu tikus pada kelompok perlakuan akan diinduksi dengan DSS dengan dosis 5 % diberikan secara peroral dan ditunggu selama 5 hari untuk membuat tikus model kolitis. Tikus dikatakan kolitis

apabila konsistensi tinja cair dan terdapat darah dalam feses dan/atau di sekitar anus (derajat 1 dan derajat 2).

- b. Diambil satu sampel tikus untuk dilihat perkembangannya dengan cara pembedahan. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 4 jam sebelum dilakukan tindakan.
- c. Apabila tikus belum mengalami kolitis lanjutkan perlakuan pemberian DSS 5 % selama 2 hari.

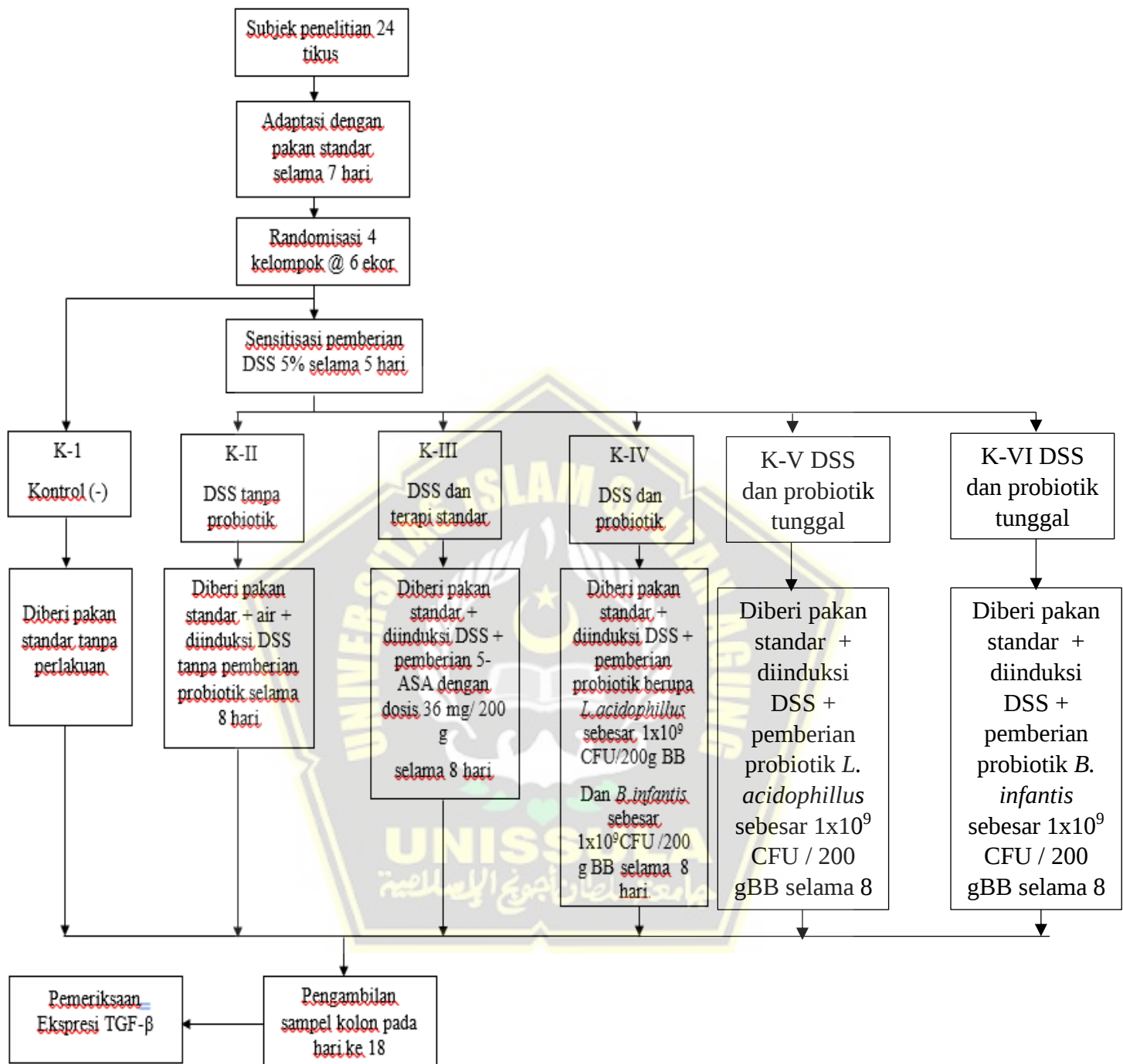
### 3.9.4 Perlakuan

1. Jika tikus sudah mengalami kolitis, dapat dilanjutkan dengan pemberian terapi standar dan terapi probiotik.
2. Kelompok perlakuan II (KIII), diberi terapi standar berupa 5-ASA yaitu *Mesalazine* tablet 500mg /kgBB per oral selama 8 hari.
3. Pada kelompok perlakuan III (KIV), diberi kombinasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* dalam sediaan kapsul dengan dosis  $1 \times 10^9$  Colony Forming Unit (CFU)/200 g berat badan dan *Bifidobacterium infantis* dalam sediaan kapsul dengan dosis  $1 \times 10^9$  Colony Forming Unit (CFU)/200 g berat badan. Keduanya dienkapsulasi dan dilarutkan bersamaan dalam aquadest sebanyak 1 mL. Larutan tersebut dihomogenkan dengan batang pengaduk. Terapi probiotik ini diberikan selama 8 hari.
4. Selama proses percobaan, di semua kelompok tikus tetap diberi makan berupa makanan standart dan minuman berupa air *ad libitum*.

### 3.10 Analisis Data

Pengolahan analisis data dilakukan menggunakan *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 25.0 for windows*. Hasil penelitian akan diperoleh data berupa ekspresi TGF- $\beta$  tikus per kelompok dan data akan diinput, ditabulasi, dan diedit. Kemudian akan dilakukan uji deskriptif untuk mengetahui nilai mean, median dan standar deviasi/standar error. Setelah itu akan dilakukan uji normalitas menggunakan *Saphiro – wilk test* dan uji homogenitas dengan menggunakan *Levenne test*. Apabila didapatkan data berdistribusi normal dan homogen pada tiap kelompok tikus maka akan dilakukan analisa dengan uji *One Way Anova* kemudian dilanjutkan uji *Post Hoc test* dengan *LSD*. Apabila data tidak homogen, maka akan dilakukan uji *Tamhane*. Kemudian, apabila data tidak berdistribusi normal dan homogen, maka akan dilakukan transformasi data. Jika setelah dilakukan transformasi, data tetap tidak berdistribusi normal dan homogen maka akan dilakukan uji non parametrik berupa *Kruskal-Wallis test*.

### 3.11 Alur Penelitian



Keterangan alur penelitian :

1. Tikus akan diadaptasi selama satu minggu kemudian dibagi menjadi 4 kelompok secara acak dengan masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus jantan berdasarkan kriteria inklusi. Tikus diberi pakan standar, diberi minum air dan berat badan ditimbang setiap hari.
2. Setelah itu tikus pada kelompok perlakuan akan diinduksi dengan DSS dengan dosis 5 % diberikan secara peroral dan ditunggu selama 5 hari untuk membuat tikus model kolitis. Tikus dikatakan kolitis apabila konsistensi tinja cair dan terdapat darah dalam feses dan/atau di sekitar anus (derajat 1 dan derajat 2).
3. Diambil satu sampel tikus untuk dilihat perkembangannya dengan cara pembedahan. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 4 jam sebelum dilakukan tindakan.
4. Apabila tikus belum mengalami kolitis lanjutkan perlakuan pemberian DSS 5 % selama 2 hari.
5. Jika tikus sudah mengalami kolitis dapat dilanjutkan pemberian terapi standar berupa 5-aminosalicylic (5-ASA) yaitu Mesalazine dengan dosis 36 mg/ 200 g selama 8 hari.
6. Pada kelompok lain, dilanjutkan pemberian kombinasi probiotik *Lactobacillus acidophilus* dengan dosis  $1 \times 10^9$  Colony Forming Unit (CFU)/200 g berat badan dan *Bifidobacterium infantis* dengan dosis  $1 \times 10^9$  Colony Forming Unit (CFU)/200 g berat badan selama 8 hari.

7. Pada hari ke-18 diambil kolorektal untuk dijadikan preparat kemudian dilihat ekspresi TGF- $\beta$ .



## BAB IV

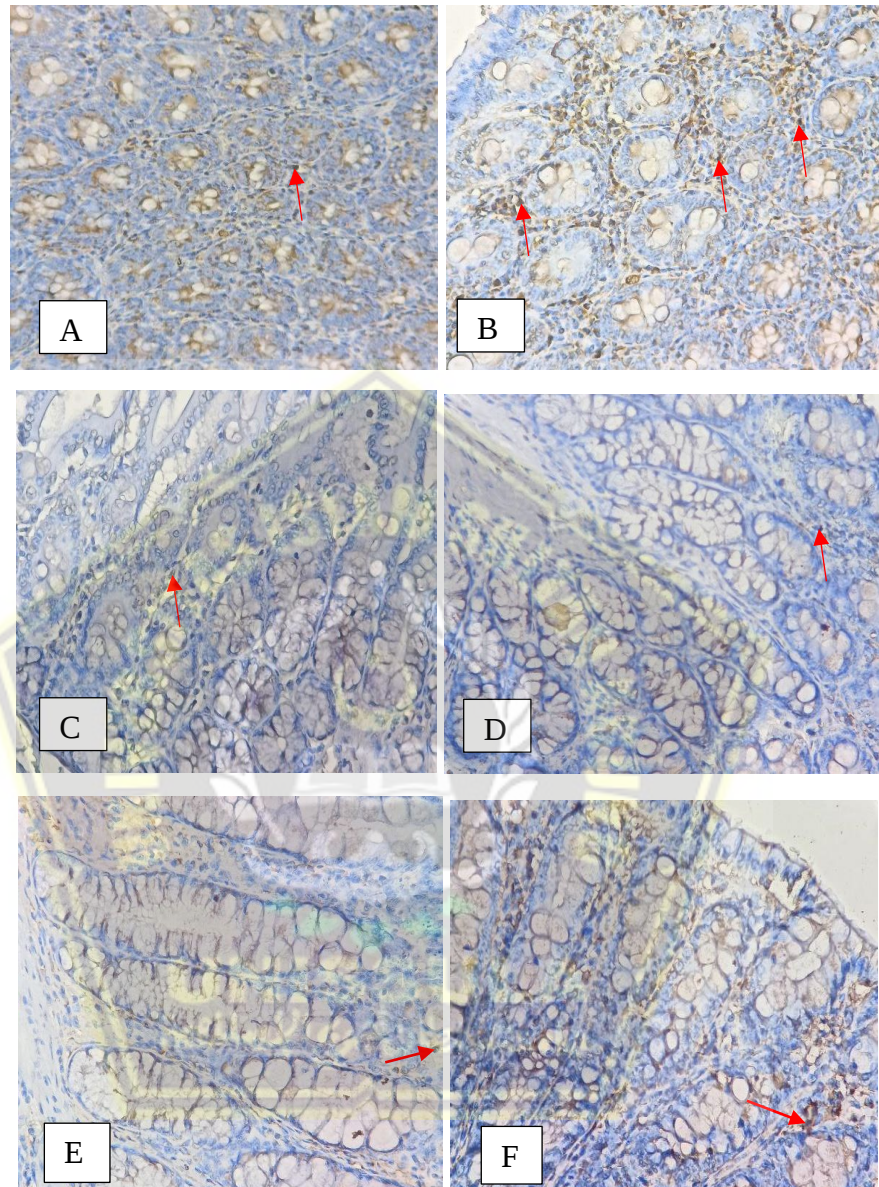
### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian dengan judul pengaruh kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*) terhadap ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada tikus Kolitis Ulseratif telah dilaksanakan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PAU) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta selama 30 hari. Penelitian ini menggunakan 24 ekor tikus galur Wistar yang di randomisasi masing-masing 6 ekor tikus per kelompok.

Kelompok kontrol (KI) merupakan kelompok tanpa perlakuan, Kelompok perlakuan I (KII) merupakan kelompok tikus yang hanya diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) tanpa diberi perlakuan, Kelompok perlakuan II (KIII) merupakan kelompok tikus yang diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) dengan diberi terapi 5-ASA, Kelompok perlakuan III (KIV) merupakan kelompok tikus yang diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) dengan diberi terapi kombinasi probiotik (*Bifidobacterium infantis* dan *Lactobacillus acidophilus*). Ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada colon terlihat berwarna coklat pada sitoplasma mukosa, Kelompok perlakuan IV (KV) merupakan kelompok tikus yang diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) dengan diberi terapi Probiotik *Lactobacillus acidophilus*, Kelompok perlakuan V (KVI) merupakan kelompok tikus

yang diinduksi *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) dengan diberi terapi Probiotik *Bifidobacterium infantis*.



**Gambar 4.1** Gambar Histologi Mukosa kolon Tikus dengan Pengecatan Imunohistokimia menggunakan Perbesaran 40x

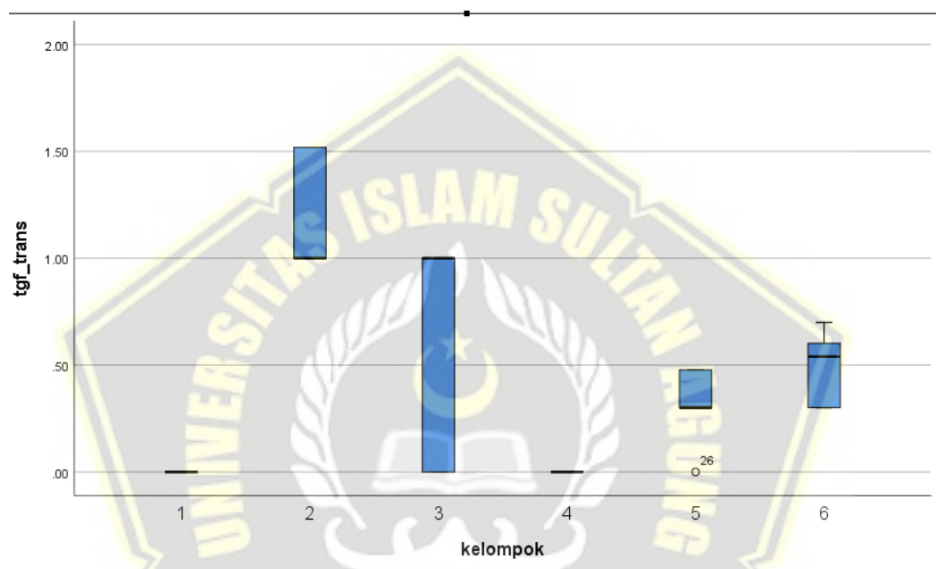
Keterangan : Panah merah menunjukkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 berwarna kecoklatan di Sitoplasma sel radang di Lamina propria

A : Kelompok I, B : Kelompok II, C : Kelompok III, D : Kelompok IV, E : Kelompok V, F Kelompok VI

#### 4.1.1 Hasil Pemeriksaan Ekspresi TGF- $\beta$ 1 Sebelum dan Sesudah *Outlier* di Ekslusi

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, didapatkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 sebelum dan sesudah *outlier* di ekslusi pada masing-masing kelompok

*Box Plot* Ekspresi TGF- $\beta$ 1 sebelum *outlier* di ekslusi pada Tikus Kolutis



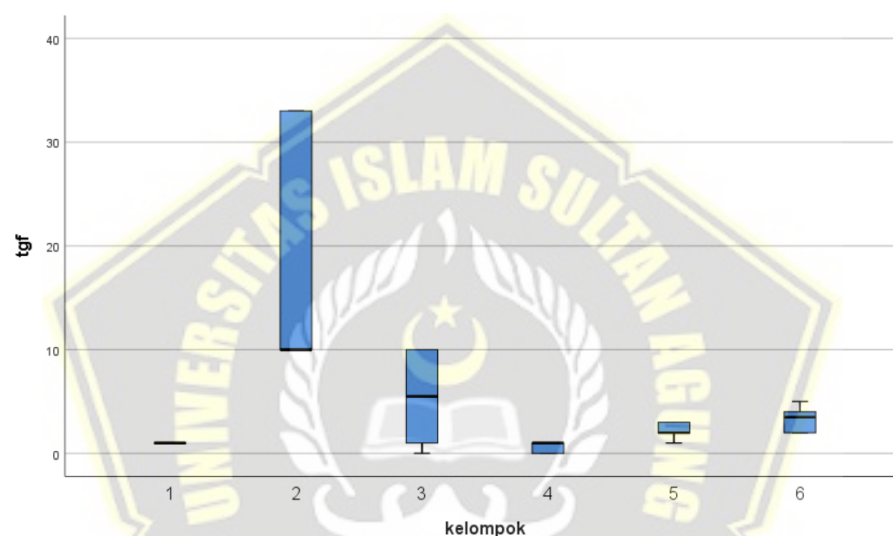
**Gambar 4.2** *Box Plot* Ekspresi TGF- $\beta$ 1 sebelum *outlier* di ekslusi

(Data Primer, 2021)

Penilaian ekspresi TGF- $\beta$ 1 dilakukan menggunakan metode Hot Spot. Data dilakukan uji deskriptif dengan dengan hasil seperti gambar 4.2. Dari gambar 4.2 terlihat distribusi tidak normal dan terdapat *outlier*. Setelah dilakukan pengecekan diputuskan *outlier* untuk di ekslusi. *Outlier* dikeluarkan karena setelah dilakukan pengecekan pada data *pre* dan *post*

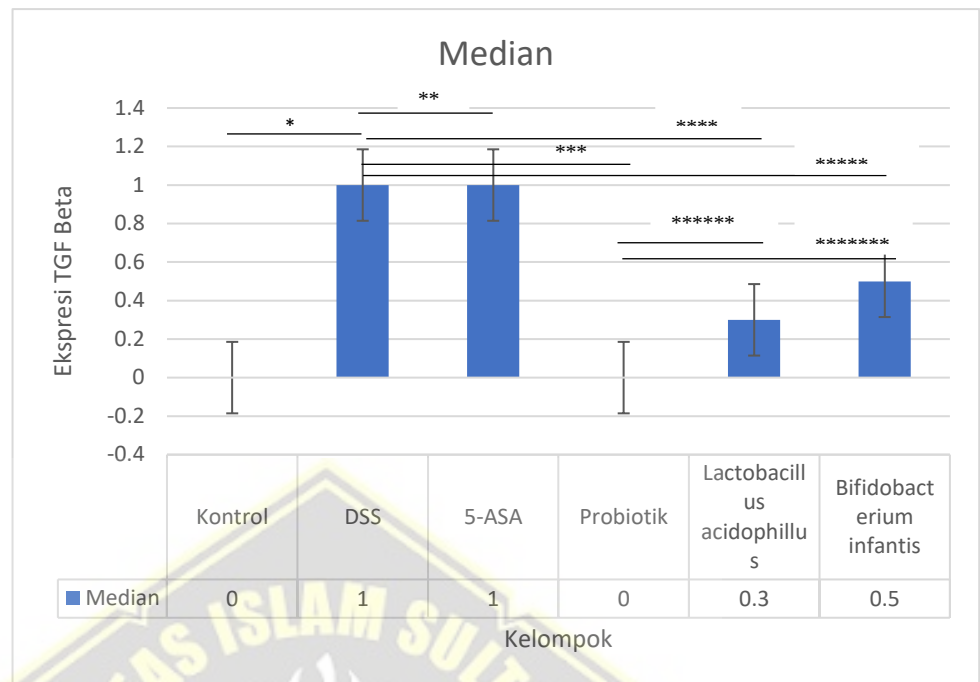
induksi untuk data IL-17 terlalu tinggi hal tersebut menunjukkan bahwa tikus sakit sebelum perlakuan dan dikeluarkan. Kemudian dilakukan uji deskriptif setelah *outlier* dikeluarkan dan didapatkan hasil seperti gambar 4.3.

*Box Plot* Ekspresi TGF- $\beta$ 1 sesudah *outlier* di ekslusi pada Tikus Kolitis



**Gambar 4.3** *Box Plot* Ekspresi TGF- $\beta$ 1 sesudah *outlier* di ekslusi  
(Data Primer, 2021)

Gambar 4.3 menunjukkan distribusi tidak normal kemudian dilakukan transformasi namun data disemua kelompok masih tidak normal dengan signifikansi  $P < 0,05$ . Kemudian dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan hasil seperti gambar 4.4



**Gambar 4.4** Pengaruh probiotik terhadap ekspresi TGF- $\beta$ 1 terdapat perbedaan antar semua kelompok  $P=0,05$  ( $p<0,05$ )

(Sumber Data primer, 2021).

\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KI) dengan kelompok (KII) dengan signifikansi 0,002 ( $P<0,05$ ).

\*\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KII) dengan kelompok (KIII) dengan signifikansi 0,036 ( $P<0,05$ ).

\*\*\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KII) dengan kelompok (KIV) dengan signifikansi 0,007 ( $P<0,05$ ).

\*\*\*\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KII) dengan kelompok (KV) dengan signifikansi 0,005 ( $P<0,05$ ).

\*\*\*\*\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KII) dengan kelompok (KVI) dengan signifikansi 0,005 ( $P < 0,05$ ).

\*\*\*\*\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KIV) dengan kelompok (KV) dengan signifikansi 0,010 ( $P < 0,05$ ).

\*\*\*\*\* : terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KIV) dengan kelompok (KVI) dengan signifikansi 0,005 ( $P < 0,05$ ).

Gambar 4.4 menunjukkan terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KI) dengan kelompok (KII) ( $p = 0,002$ ), kelompok (KII) dengan kelompok (KIII) ( $p = 0,036$ ), Kelompok (KII) dengan kelompok (KIV) ( $p = 0,007$ ), akan tetapi terdapat data yang tidak mengalami perbedaan pada kelompok (KI) dengan kelompok K(III) ( $p = 0,248$ ), kelompok (KI) dengan kelompok (KIV) ( $p = 0,102$ ), kelompok (KIII) dengan kelompok K(IV) ( $p = 0,118$ ), kelompok (KV) dengan kelompok (KVI) ( $p = 0,094$ ), kelompok (KIII) dengan kelompok (KV) ( $p = 0,870$ ), kelompok (KII) dengan kelompok (KVI) ( $p = 1,000$ ).

## 4.2 Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *post test only* menggunakan 4 kelompok tikus dengan masing-masing perlakuan yang beda. Keberhasilan induksi tikus dengan DSS diperiksa dengan melakukan pemeriksaan IL-17 dan penurunan IL-10 *pre* dan *post*

induksi. Hasil induksi diputuskan berhasil setelah didapatkan peningkatan IL-17 dan IL-10. Selanjutnya tikus yang berhasil diinduksi diberi terapi dengan kombinasi probiotik dengan dosis  $1 \times 10^9$  CFU/hari. Sebagai kontrol terdapat tikus yang di berikan terapi standar berupa 5-ASA, hasilnya menunjukkan bahwa baik tikus yang diberi terapi probiotik dan terapi standar mengalami perbaikan dapat dilihat dari ekspresi TGF- $\beta$ 1 yang berbeda dengan kelompok yang tidak diberi terapi.

Pada kelompok uji II diberi perlakuan dengan *Dextran Sodium Sulphate* (DSS) untuk membuat tikus menderita KU. Pada kelompok III diberikan terapi standar berupa 5-ASA. Pada kelompok IV diberi terapi probiotik berupa kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophillus* dan *Bifidobacterium infantis*). Pada Kelompok II yang hanya diinduksi DSS menunjukkan hasil kenaikan espresi TGF- $\beta$ 1 dibandingkan kelompok I, kelompok III dan kelompok IV. Kenaikan tersebut dapat menunjukkan bahwa penggunaan DSS dengan dosis 5% mampu membuat tikus mengalami Kolitis Ulseratif.

Nilai rata-rata ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok I sebesar  $(1 \pm 0)$  dan nilai rata-rata ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok II sebesar  $(10 \pm 12,59)$ . Setelah dilakukan analisis *Mann Whitney* terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok I dan kelompok II ( $p=0,002$ ). Pada penelitian yang telah dilaksanakan sebelumnya didapatkan penderita KU mengalami peningkatan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada sitoplasma sel radang sehingga jalur smad7 mengalami gangguan dan menyebabkan penghambatan sitokin

inflamasi (Jovanovic *et al.*, 2018). Pada Gangguan sinyal TGF- $\beta$ 1 yang terjadi di sel T dan sel dendritik akan menyebabkan KU secara spontan (Ihara, Hirata and Koike, 2017). DSS di berikan 2-5% secara berkala dan terus menerus sekitar 4-9 hari. DSS dapat menyebabkan degenerasi epitel, penipisan musin, dan nekrosis. DSS juga dapat mempengaruhi keseimbangan mikroflora usus (Perše and Cerar, 2012).

Hasil ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok III digunakan sebagai perbandingan tingkat efektivitas antara terapi standar dan terapi probiotik. Didapatkan hasil rata-rata ekspresi TGF- $\beta$ 1 sebesar ( $5,5 \pm 5,1$ ) pada kelompok III. Pada kelompok II diperoleh rata-rata ( $10 \pm 12,59$ ). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi standar 5-ASA selama 8 hari mampu menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1. Pada kelompok II dari uji analisis *Mann Whitney* perbedaan antara kelompok II dan kelompok III ( $p=0,03$ ). Hasil rerata ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok III lebih tinggi dibandingkan dengan rerata kelompok IV ( $1 \pm 0,54$ ). Analisis menggunakan analisis *Mann Whitney* tidak didapatkan perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok III dengan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok IV ( $p=0,11$ ). Dengan demikian dapat ditarik kesimpulan bahwa terapi 5-ASA dengan dosis 36 mg / 200g yang di berikan selama 8 hari mampu menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1.

Hasil ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok IV digunakan sebagai pembuktian apakah pemberian terapi alternatif berupa kombinasi probiotik (*Lactobacillus acidophilus* dan *Bifidobacterium infantis*) mampu menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1. Hasil rata-rata ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada

kelompok IV sebesar ( $1 \pm 0,54$ ) nilai lebih kecil dibandingkan dengan rata-rata kelompok II sebesar ( $10 \pm 12,59$ ). Pada kelompok II dari uji analisis *Mann Whitney* perbedaan antara kelompok II dan kelompok IV ( $p=0,007$ ). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian terapi alternatif berupa kombinasi probiotik *Lactobacillus acidophillus* dosis  $1 \times 10^9$  CFU/ 200 g BB dan *Bifidobacterium infantis* dosis  $1 \times 10^9$  CFU/ 200 g BB selama 8 hari dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada tikus Kolitis Ulseratif. Menurut Zuo *et al* *Bifidobacterium infantis* dapat mengurangi jumlah sel Th1 dan Th17 kemudian meningkatkan proporsi Treg Foxp<sup>3+</sup> di dalam kolon pada tikus KU. *Bifidobacterium infantis* menghambat ekspresi Th17 terkait IL-17 dan menginduksi ekspresi IL-10 pada tikus kolitis yang diinduksi DSS dan penurunan sitokin proinflamasi Th1 (TNF- $\alpha$ , IL-12, dan IFN- $\gamma$ ) (Zuo *et al.*, 2014). Menurut Park *et al* *Lactobacillus acidophillus* dapat mengembalikan keseimbangan sitokin inflamasi dan sel Th17 atau Treg. *Lactobacillus acidophillus* dinilai mampu melemahkan KU dengan menekan sitokin proinflamasi di jaringan usus besar seperti TGF- $\beta$ 1. *Lactobacillus acidophillus* dapat menginduksi sel Treg dan produksi IL-10 dan menekan produksi IL-17 (Park *et al.*, 2018). Probiotik *Lactobacillus* dan *Bifidobacterium* keduanya merupakan koloni terbesar di saluran cerna yang bersifat menekan terhadap alergi dan inflamasi. *Lactobacillus* dapat menginduksi TGF- $\beta$ 1 yang berperan dalam penghambatan produksi IL-4 dan IL-5 (*down regulating*) supaya tidak timbul badai sitokin. *Bifidobacterium* dapat menginduksi produksi sitokin dengan cara berikatan

dengan makrofag, sel epitel, dan sel dendritik pada proses adhesi. Pada saat terdapat alergi atau autoimun sel T naif akan menjadi Th2 dan Th17 kemudian akan menginduksi keluarnya sitokin IL-4 dan IL-17 (Widiyaningsih, 2016).

Hasil penelitian ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok V digunakan untuk membuktikan apakah pemberian probiotik tunggal *Lactobacillus acidophillus* pada tikus model kolitis ulseratif dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1. Rata-rata ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok V adalah ( $2 \pm 0,7$ ) dan lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok II sebesar ( $10 \pm 12,59$ ). Hasil data menunjukkan bahwa pemberian probiotik tunggal *Lactobacillus acidophillus* dengan dosis  $1 \times 10^9$  CFU/ 200 g BB dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada tikus model kolitis ulseratif.

Hasil penelitian ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok VI digunakan untuk membuktikan apakah pemberian probiotik tunggal *Bifidobacterium infantis* pada tikus model kolitis ulseratif dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1. Rata-rata ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok VI adalah ( $3.50 \pm 1,21$ ) dan lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok II sebesar ( $10 \pm 12,59$ ). Hasil data menunjukkan bahwa pemberian probiotik tunggal *Bifidobacterium infantis* dengan dosis  $1 \times 10^9$  CFU/ 200 g BB dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada tikus model kolitis ulseratif.

Pada Penelitian ini didapatkan keterbatasan yang berupa tidak dilakukan pemeriksaan fisik secara lengkap dan tidak dilakukan

pengamatan pada kotoran tikus sebelum dan sesudah perlakuan, tidak dilakukan pemeriksaan derajat KU setelah induksi DSS sehingga standar deviasinya tinggi, peneliti tidak menilai keberhasilan kolonisasi dari kombinasi probiotik yang digunakan.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada kelompok kontrol (KI) ekspresi TGF- $\beta$ 1 ( $1 \pm 0,01$ ).
2. Pada kelompok perlakuan I (KII) ekspresi TGF- $\beta$ 1 ( $10 \pm 12,59$ ).
3. Pada kelompok perlakuan II (KIII) ekspresi TGF- $\beta$ 1 ( $5,5 \pm 5,1$ ).
4. Pada kelompok perlakuan III (KIV) ekspresi TGF- $\beta$ 1 ( $1 \pm 0,54$ ).
5. Terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KI) dengan kelompok (KII) dengan signifikansi 0,002 ( $P < 0,05$ ).  
Terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KII) dengan kelompok (KIII) dengan signifikansi 0,036 ( $P < 0,05$ ).  
Terdapat perbedaan ekspresi TGF- $\beta$ 1 pada kelompok (KII) dengan kelompok (KIV) dengan signifikansi 0,007 ( $P < 0,05$ ).

#### **5.2 Saran**

Berikut kesalahan peneliti dan saran untuk melakukan penelitian selanjutnya sebagai berikut :

1. Dapat dilakukan pemeriksaan fisik secara lengkap dan dilakukan pengamatan kotoran tikus sebelum dan sesudah induksi DSS secara berkala.
2. Dilakukan pemeriksaan derajat KU paska induksi DSS.
3. Menilai keberhasilan kolonisasi dari probiotik yang digunakan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abraham, B. P. and Quigley, E. M. M. (2018) 'A Probiotic for Ulcerative Colitis: The Culture Wars Continue', *Digestive Diseases and Sciences*, 63(7), pp. 1678–1680. doi: 10.1007/s10620-018-5097-1.
- Aisyah, R. and Jatmiko, S. W. (2019) 'Jalur Sinyal TGF- $\beta$  Berperan Dalam Self Renewal, Diferensiasi, Dan Proliferasi Stem Cell', *Saintika Medika*, 15(1), p. 50. doi: 10.22219/sm.vol15.smumm1.8002.
- Anjum, N. *et al.* (2014) 'Lactobacillus acidophilus: Characterization of the Species and Application in Food Production', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(9), pp. 1241–1251. doi: 10.1080/10408398.2011.621169.
- Chassaing, B. *et al.* (2015) 'DSS Protocol', *Curr Protoc Immunol*, 27(4), pp. 1–19. doi: 10.1002/0471142735.im1525s104.Dextran.
- Davide, V. *et al.* (2016) 'Efek jangka panjang probiotik dalam terapi kolitis ulserativa : Sebuah studi klinis', 160(3), pp. 372–377.
- Djunaedi, D. (2013) 'Pengaruh probiotik pada respon imun effects of probiotics on immune response Djoni Djunaedi Laboratorium Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Unibraw / RSUD dr. Saiful Anwar Malang', *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 13(1), pp. 22–27.
- Endaryanto, A. and Harsono, A. (2010) 'Prospek Probiotik dalam pencegahan alergi melalui induksi aktif toleransi imunologis', pp. 1–14.
- Fakhoury, M., Negrulj, R. and Al-salami, H. (2014) 'Penyakit radang usus : aspek klinis dan pengobatan', pp. 113–120.
- Guandalini, S. (2019) 'Probiotik dalam Pengobatan Penyakit Radang Usus'.
- Hegazy, S. K. and El-Bedewy, M. M. (2010) 'Effect of probiotics on pro-inflammatory cytokines and NF- $\kappa$ B activation in ulcerative colitis', *World Journal of Gastroenterology*, 16(33), pp. 4145–4151. doi: 10.3748/wjg.v16.i33.4145.
- Ho, G. T., Porter, R. J. and Kalla, R. (2020) 'Ulcerative colitis: Recent advances in the understanding of disease pathogenesis', *F1000Research*, 9. doi: 10.12688/f1000research.20805.1.
- Ihara, S., Hirata, Y. and Koike, K. (2017) 'TGF- $\beta$  in inflammatory bowel disease: a key regulator of immune cells, epithelium, and the intestinal microbiota', *Journal of Gastroenterology*, 52(7), pp. 777–787. doi: 10.1007/s00535-017-1350-1.
- Imai, K. *et al.* (2013) 'Bronchioloalveolar invasion in non-small cell lung cancer is associated with expression of transforming growth factor- $\beta$ 1', *World Journal of Surgical Oncology*, 11, pp. 1–5. doi: 10.1186/1477-7819-11-

113.

- Islam, S. U. (2016) 'Clinical Uses of Probiotics', *Medicine*, 95(5), p. e2658. doi: 10.1097/MD.0000000000002658.
- Jovanovic, M. *et al.* (2018) 'TGF-B SEBAGAI PENANDA kolitis ulseratif TGF-B SEBAGAI PENANDA kolitis ulseratif', 19(1), pp. 229–236.
- Kim, W. (2020) 'Pengentasan kolitis akibat DSS melalui *Lactobacillus acidophilus* pengobatan pada tikus †'.
- Kucharzik, T. *et al.* (2020) 'Colitis ulcerosa - Diagnostische und therapeutische Algorithmen', *Deutsches Arzteblatt International*, 117(33–34), pp. 564–573. doi: 10.3238/arztebl.2020.0564.
- Kurniati, A. M. (2016) 'Mikrobiota Saluran Cerna : Tinjauan dari Aspek Pemilihan Asupan Makanan The Gut Microbiota : A Review of Diet Preferences', *Food safety*, 1, pp. 380–384.
- Kusumo, P. D. (2010) 'Potensi probiotik dalam mekanisme sistem imunitas', XXVII(4), pp. 184–193.
- Liu, T. C. and Stappenbeck, T. S. (2016) 'Genetics and Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease', *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 11(February), pp. 127–148. doi: 10.1146/annurev-pathol-012615-044152.
- Markusf (2002) 'Peran polarisasi Th1 / Th2 dalam imunitas mukosa', pp. 567–573.
- Martin, J. C., Bériou, G. and Josien, R. (2016) 'Dextran sulfate sodium (DSS)-induced acute colitis in the rat', *Methods in Molecular Biology*, 1371, pp. 197–203. doi: 10.1007/978-1-4939-3139-2\_12.
- Metelli, A. *et al.* (2018) 'Fungsi imunoregulasi dan implikasi terapeutik GARP-TGF-β peradangan dan kanker di', 0, pp. 1–11.
- Ordás, I. *et al.* (2012) 'Ulcerative colitis', *The Lancet*, 380(9853), pp. 1606–1619. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0.
- Park, J. S. *et al.* (2018) 'Lactobacillus acidophilus Improves Intestinal Inflammation in an Acute Colitis Mouse Model by Regulation of Th17 and Treg Cell Balance and Fibrosis Development', *Journal of Medicinal Food*, 21(3), pp. 215–224. doi: 10.1089/jmf.2017.3990.
- Perše, M. and Cerar, A. (2012) 'Dextran sodium sulphate colitis mouse model: Traps and tricks', *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012(May). doi: 10.1155/2012/718617.
- Porter, R. J., Kalla, R. and Ho, G. (2020) 'rative e colitis : Kemajuan terbaru dalam pemahaman patogenesis U E I V . c', 9.

- Prostat, K. *et al.* (2014) 'Akses Publik HHS Naskah', (7), pp. 1–16.
- Putri, A. A. *et al.* (2018) 'Isolasi Bakteri Asam Laktat Genus *Lactobacillus* Dari Feses Rusa Sambar ( *Cervus unicolor* )', *Jimvet E-Issn* : 2540-9492, 2(1), pp. 170–176.
- Sedda, S. *et al.* (2015) 'TGF- b / Sistem Smad dalam Patogenesis IBD', 21, pp. 2921–2925.
- Serra, R. (2002) 'Transforming Growth Factor beta (TGFβ)', *Encyclopedia of Life Sciences*, 10(1), pp. 27–36. doi: 10.1038/npg.els.0000934.
- Shigwedha, N. (2013) 'Bifidobacterium in Human GI Tract: Screening, Isolation, Survival and Growth Kinetics in Simulated Gastrointestinal Conditions', in Kongo, L. J. E.-M. (ed.). Rijeka: IntechOpen, p. Ch. 12. doi: 10.5772/50457.
- Suarjana, K. (2017) 'Profil kesehatan Provinsi Bali', p. 283.
- Utara, I. S. *et al.* (2021) 'Patofisiologi kolitis yang diinduksi dextran sodium sulfat pathophysiology induced collitis dextran sodium sulfat', 20(1), pp. 33–41.
- Widiyaningsih, E. N. (2016) 'Peran probiotik untuk kesehatan Endang Nur Widiyaningsih', *Jurnal Kesehatan*, 4(1), pp. 14–20.
- Zuo, L. *et al.* (2014) 'Bifidobacterium infantis melemahkan kolitis dengan mengatur respons subset sel T .', 20(48), pp. 18316–18329.

