

**PENGARUH KOMBINASI *URSODEOXYCHOLIC ACID* (UDCA) DAN
GLUTATHIONE TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN TINGGI VILI
MUKOSA ILEUM TERMINAL PADA KOLESTASIS:**

Studi Eksperimental Pada Tikus Sprague Dawley



Tesis

**Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat S-2
Magister Ilmu Biomedik**

**Jonathan Alvin Nugraha Halim
22010120420015**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2022**

HALAMAN PENGESAHAN

Pengaruh Kombinasi *Ursodeoxycholic Acid* (UDCA) dan Glutathione Terhadap Ekspresi TNF- α dan Tinggi Vili Mukosa Ileum Terminal Pada Kolestasis: Studi Eksperimental Pada Tikus *Sprague Dawley*

diajukan oleh

JONATHAN ALVIN NUGRAHA HALIM

22010120420015

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji

Pada 29 Agustus 2022

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui

Pembimbing I

dr. Endang Sri Lestari, Ph.D.

NIP. 19661016 199702 2 001

Pembimbing II

Dr. dr. Sigit Adi Prasetyo, M.Si.Med., Sp.B-KBD

NIP. 19820204 200912 1 004

Penguji Ketua

dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med, Ph.D.

NIP. 19830218 200912 2 004.

Penguji

dr. Agung Aji Prasetyo, M.Si.Med, SpBA

NIP. 19820515 200812 1 002

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M.Kes, SpB(K)Onk

NIP. 19750124 200801 1 006

PERNYATAAN KEASLIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong Plagiarism sebagaimana dimaksud dalam Permendiknas No.17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 30 Agustus 2022

Jonathan Alvin Nugraha Halim

NIM 22010120420015

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

A. IDENTITAS

1. Nama : Jonathan Alvin Nugraha Halim
2. NIM Magister Biomedik : 22010120420015
3. Tempat / Tgl lahir : Semarang / 14 Juli 1994
4. Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SD – Xaverius 1 Jambi : Lulus Tahun 2006
2. SMP – Xaverius 1 Jambi : Lulus Tahun 2009
3. SMA – SMA Kolese Loyola Semarang : Lulus Tahun 2012
4. Dokter umum – FK UNDIP Semarang : Lulus Tahun 2019
5. Magister Ilmu Biomedik Pasca Sarjana UNDIP Semarang
6. PPDS I Bedah FK UNDIP Semarang

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya peneliti dapat menyelesaikan Tesis ini. Penulisan Tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Dalam penulisan Tesis ini, peneliti banyak mendapatkan dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, peneliti mengucapkan terima kasih yang serta penghargaan kepada :

1. Prof. Dr. Yos Johan Utama, S.H., M.Hum. sebagai Rektor Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk belajar serta meningkatkan pengetahuan keahlian.
2. Prof. Dr. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes., Sp.S. (K) sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan keahlian.
3. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, SpB(K) Onk, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan keahlian.
4. dr. Endang Sri Lestari, Ph.D selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan ilmu, waktu, dan tenaga untuk membimbing penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah ini serta selalu memberikan inspirasi untuk kami.
5. Dr. dr. Sigit Adi Prasetyo, M.Si.Med., Sp.B-KBD selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan ilmu, waktu, dan tenaga untuk membimbing penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah ini serta selalu memberikan inspirasi untuk kami.
6. dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med., Ph.D selaku Penguji Ketua yang telah menyediakan waktu dan tenaga serta memberikan masukan dalam penyusunan naskah.

7. dr. Agung Aji Prasetyo, M.Si.Med., SpBA selaku Penguji yang telah menyediakan ilmu, waktu, dan tenaga untuk membimbing penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah ini serta selalu memberikan inspirasi
8. Istri (dr. Amanda Kristiani) dan Anak (Alina Kimberly Halim) yang telah memberikan dukungan dan semangat serta mendampingi penulis menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
9. Pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dan memberikan dukungan sehingga karya tulis ilmiah ini dapat terselesaikan dengan baik.

Peneliti menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini jauh dari sempurna, untuk itu peneliti mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan berkat dan rahmat yang berlimpah untuk kita semua.

Semarang, 30 Agustus 2022

dr. Jonathan Alvin Nugraha Halim

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN.....	iii
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.2.1 Masalah umum	3
1.2.2 Masalah khusus	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Keaslian Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Kolestasis	10
2.1.1 Etiologi Kolestasis	10
2.1.2 Patogenesis dan Patofisiologi Kolestasis	10

2.1.3	Hubungan Kolestasis dan Gangguan Intestinal pada Kolestasis	13
2.2	UDCA	19
2.2.1	Farmakokinetik UDCA	19
2.2.2	Farmakodinamik UDCA	20
2.2.3	UDCA sebagai terapi kolestasis	23
2.3	Glutathione	24
2.4	Efek Ligasi Duktus Koledokus pada Tikus Sprague Dawley	28
2.5	Kerangka Teori.....	29
2.6	Kerangka Konsep	29
2.7	Hipotesis.....	30
2.7.1	Hipotesis mayor	30
2.7.2	Hipotesis Minor.....	30
BAB III METODE PENELITIAN.....		31
3.1	Ruang Lingkup Penelitian	31
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.3	Jenis dan Rancangan Penelitian	31
3.4	Populasi dan Sampel Penelitian	33
3.4.1	Populasi	33
3.4.2	Sampel Penelitian.....	34
3.4.3	Cara Sampling.....	34
3.4.4	Besar Sampel.....	34
3.5	Variabel Penelitian	35
3.6	Definisi Operasional.....	35
3.7	Instrumen Penelitian.....	36
3.8	Jenis Data	37
3.9	Cara Kerja	37
3.10	Alur Penelitian	42
3.11	Analisis Data	42
3.12	Etika Penelitian	43
BAB IV HASIL PENELITIAN		44
4.1	Analisis Sampel Penelitian.....	44

4.2 Analisis Ekspresi TNF- α Ileum	45
4.3 Analisis Tinggi Vili Mukosa Ileum Terminal.....	48
4.4 Analisis Ekspresi TNF- α Ileum terhadap Tinggi Vili Mukosa Ileum.....	51
BAB V PEMBAHASAN	52
5.1 Ekspresi TNF- α Ileum.....	52
5.2 Tinggi Vili Mukosa Ileum.....	53
5.3 Hubungan Ekspresi TNF- α Ileum terhadap Tinggi Vili Mukosa Ileum	54
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN.....	57
6.1 Simpulan	57
6.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	66
Ethical Clearance	66

DAFTAR TABEL

Tabel 1.Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 2 Mekanisme Patofisiologi ROS.....	25
Tabel 3 Definisi Operasional	35
Tabel 4 Hasil Analisis Deskriptif Ekspresi TNF- α Ileum Terminal	45
Tabel 5 Uji Normalitas dan Varians Ekspresi TNF- α Ileum Terminal Tikus.....	47
Tabel 6 Hasil Uji Komparasi Post Hoc Mann-Whitney Ekspresi TNF- α	48
Tabel 7 Hasil Analisis Deskriptif Tinggi Vili Mukosa Ileum Terminal	48
Tabel 8 Uji Normalitas dan Varians Tinggi Vili Ileum Terminal Tikus	50
Tabel 9 Hasil Uji Komparasi Post Hoc Mann-Whitney Tinggi Villi Ileum	51
Tabel 10 Pengaruh ekspresi TNF- α terhadap tinggi vili mukosa ileum terminal ..	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Protein Transpor Pada Hepatosit.....	21
Gambar 2 Reaksi Metabolisme H ₂ O ₂ oleh GSH	26
Gambar 3 Rancangan Penelitian	32
Gambar 4 Alur Penelitian.....	42
Gambar 5 Duktus Choledoucus Tikus yang Diligasi	44
Gambar 6 Pengecatan IHK TNF pada Ileum terminal.....	46
Gambar 7 Box-plot Ekspresi TNF- α Ileum Terminal.....	47
Gambar 8 Ileum terminal pada perbesaran 100x	49
Gambar 9 Box-plot Tinggi Vili Ileum Terminal.....	50

DAFTAR SINGKATAN

ALP	: Alkaline Phosphatase
ALT	: Alanine Aminotransferase
AST	: Aspartate Aminotransferase
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
ET	: Endothelin
FGF	: Fibroblast Growth Factor
GCL	: Glutamate Cysteine Ligase
GGT	: Gamma Glutamyl Transferase
GPc	: Glutathione Peroxidase
GSH	: Glutathione (γ -glutamyl-cysteinyl-glycine)
GSS	: Glutathione Syntethase
GSSG	: Glutathione Disulfide
GST	: Glutathione S-Transferase
IL	: Interleukin
LFT	: Liver Function Test
ROS	: Reactive Oxygen Species
TNF- α	: Tumor Necrosis Factor Alpha
UDCA	: Ursodeoxycholic acid
LPS	: lipopolisakarida
MT	: Metallothionein
NADPH	: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NF- κ B	: Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B
NO	: Nitric Oxide
OAT	: Organic Anion Transporter
OATP	: Organic Anion-Transporting Polypeptide
OCT	: Organic Cation Transport
P-gp	: Permeability Glycoprotein
PAF	: Platelet Activating Factor

PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor
PKC	: Protein Kinase C
PSC	: Primary Sclerosing Cholangitis
RNS	: Reactive Nitrogen Species
PBC	: Primary Biliary Cirrhosis
SAMe	: S-adenosylmethionine
SOD	: Superoxide Dismutase

DAFTAR LAMPIRAN

Ethical Clearance.....	66
Dokumentasi Penelitian	67
Analisis Data	68

ABSTRAK

PENDAHULUAN: Kolestasis merupakan suatu kondisi yang disebabkan oleh obstruksi saluran empedu atau alirannya dan dapat mengakibatkan komplikasi seperti kegagalan usus dan sepsis yang diturunkan dari usus akibat akumulasi spesies oksigen reaktif. Ursodeoxycholic Acid (UDCA) berfungsi sebagai immunomodulator. Glutathione memiliki kemampuan antioksidan dan mungkin berperan dalam penyakit tertentu yang berhubungan dengan stres oksidatif.

TUJUAN: Menganalisis efek kombinasi UDCA dan Glutathione pada ekspresi TNF- α dan ketinggian vili mukosa ileum terminal pada kolestasis.

METODE: Dua puluh delapan tikus jantan Sprague Dawley secara acak dibagi menjadi empat kelompok, masing-masing termasuk tujuh hewan yang sebelumnya telah menjalani ligasi saluran empedu: kelompok K, suplementasi UDCA 20 mg; kelompok P1, UDCA dan suplementasi Glutathione 10 mg; kelompok P2, suplementasi UDCA 20 mg dan Glutathione 15 mg; kelompok P3, suplementasi UDCA 30 mg dan Glutathione 20 mg selama 21 hari. Sampel ileum diwarnai menggunakan pewarnaan HE dan imunohistokimia TNF- α . Uji statistik menggunakan uji *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan dengan uji post hoc *Mann Whitney U*.

HASIL: Kombinasi UDCA dan Glutathione menurunkan ekspresi TNF- α ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok UDCA saja, terutama pada kelompok T2 ($p < 0,05$) dan kelompok T3 ($p < 0,05$). Tinggi vili mukosa lebih tinggi pada kelompok kombinasi UDCA-Glutathione untuk ketiga variasi dosis yang diberikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok UDCA saja.

KESIMPULAN: Kombinasi UDCA-glutathione menurunkan ekspresi TNF- α dan meningkatkan tinggi vili mukosa ileum pada kolestasis.

Kata kunci: UDCA; Glutathione; kolestasis; TNF- α ; Tinggi vili usus

ABSTRACT

INTRODUCTION: Cholestasis, a frequently observed condition caused by obstruction of the common bile duct or its flow and seen in many clinical situations, may result in severe complications like an intestinal failure and gut-derived sepsis resulting from the accumulation of reactive oxygen species. Ursodeoxycholic Acid (UDCA) is known to surpass reactive oxygen species. But, UDCA alone could not exhibit satisfactory results. Glutathione has antioxidant abilities and may play a role in specific diseases related to oxidative stress.

AIM: To elaborate on the effects of the combination of UDCA and Glutathione on TNF- α expression and height of terminal ileal mucosal villus in cholestasis.

METHODS: Twenty-eight male Sprague Dawley rats were randomly divided into four groups, each including seven animals that had previously undergone bile duct ligation: group C, 20 mg UDCA supplementation; group T1, UDCA and 10 mg Glutathione supplementation; group T2, 20 mg UDCA and 15 mg Glutathione supplementation; group T3, 30 mg UDCA and 20 mg Glutathione supplementation for 21 days. Ileal samples were stained using HE staining and TNF- α immunohistochemistry. Statistical analysis was conducted using the Kruskal Wallis test with Post Hoc Mann Whitney U test.

RESULTS: All 28 rats survived this study. The combination of UDCA and Glutathione decreases TNF- α expression ($p < 0.05$) compared to UDCA only group, particularly in group T2 ($p < 0.05$) and group T3 ($p < 0.05$). The height of the mucosa villus was higher in the UDCA-Glutathione combination groups for all the three dosage variations given ($p < 0.05$) compared to UDCA only group.

CONCLUSION: Ursodeoxycholic Acid (UDCA) - Glutathione combination downregulates TNF- α expression and improves ileum mucosal villus height in cholestasis.

Keywords: UDCA; Glutathione; Cholestasis; TNF- α ; Intestinal villus height