

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 20	No. 3	Hal. 171-261	Surabaya Juli 2014	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	--------------	-----------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Kadar Fibrin Monomer dan Ukuran Infark di Strok Iskemik Akut (<i>Fibrin Monomer Level and Infarct Size in Acute Ischemic Stroke</i>) Ani Kartini, Mansyur Arif, Hardjoeno	171-175
ST2 di Infark Miokard Akut (<i>ST2 in Acute Myocardial Infarction</i>) Hery Priyanto, Jusak Nugraha, SP Edijanto	176-179
Bakteri Aerob dan Bakteri Penyebab Penyakit di <i>Neonatal Intensive Care Unit</i> (<i>Aerobic Bacteria and Pathogenic in Neonatal Intensive Care Unit</i>) Suriyanti, Irda Handayani, Benny Rusli	180-182
Prokalsitonin, CRP dan Presepsin Serum di SIRS (<i>Serum Procalcitonin, CRP and Presepsin in SIRS</i>) Hendrianingtyas, Banundari RH, Indranila KS, Imam Budiwiyo	183-191
<i>Carcinoembryonic Antigen (CEA)</i> di Kanker Kolorektal {(<i>Carcinoembryonic Antigen (CEA) in Colorectal Cancer</i>)} Nur Rahmi Raehaan, Asvin Nurulita, Mansyur Arif	192-196
Upaya Optimasi Pembuatan Plasma Kaya Trombosit sebagai Pengobatan Sel Punca (<i>Optimization Attempt on Platelet Rich Plasma Preparation for Stem Cell Therapy</i>) Meiti Muljanti, Yeti Hernaningsih, Hans K Nugraha, Jusak Nugraha	197-200
Hubungan Oksida Nitrat dan Nilai Histopatologis pada Endotoksemia (<i>Correlation Between Nitric Oxide Levels and Histopathology Scores During Endotoxemia</i>) Sotianingsih, Suharyo, Lisyani S, Guntur HA	201-204
Kadar Interleukin-8 Kanker Payudara (<i>Interleukin-8 Levels In Breast Cancer</i>) Juranah, Yuyun Widaningsih, William Hamdani, Ruland DN Pakasi, Uleng Bahrin	205-209
Protein Terkait Apoptosis pada Leukemia Limfoblastik Akut (<i>Apoptosis Related Protein in Acute Lymphoblastic Leukemia</i>) Syahrul Chilmi, Ingga Gebyarani, Laurentia Ima Monica, Japendi Rizall Pavliando, Susanto Nugroho, Edi Widjajanto	210-215
Jamur di Peralatan <i>Neonatal Intensive Care Unit</i> (<i>Fungus on Instruments in the Neonatal Intensive Care Unit</i>) Ariani Said, Irda Handayani, Nurhayana Sennang	216-218
Sari <i>Centella Asiatica</i> Asli Bali Meningkatkan Sekresi <i>Tumour Necrosis Factor Alpha (Tnf-α)</i> pada Mencit yang Diinfeksi <i>Salmonella typhi</i> (<i>Centella Asiatica Extract the Original Bali Increase Tumor Necrosis Factor Alpha (Tnf-α) Secretion on Mice Infected By Salmonella typhi</i>) I Nyoman Wande, Sianny Herawati, Ida Ayu Alit Widhiartini, I Wayan Putu Sutirta Yasa, Tjokorda Gede Oka, Ni Made Linawati	219-223

Waktu Penyimpanan Trombosit Terkait Jumlah di Konsentrat Trombosit (<i>Storing Time of Thrombocyte on Platelets Count in its Concentrates</i>) Raehana Samad, Agus Alim Abdullah, Kusriny AP, Mansyur Arif	224-226
Kadar Asam Urat Serum dan Komponen Sindrom Metabolik (<i>Serum Uric Acid and Metabolic Syndrome Component</i>) MI Diah P, Banundari Rachmawati, Purwanto AP	227-232
<i>Hospital Acquired Pneumonia Onset dan Bakteremia</i> (<i>Hospital Acquired Pneumonia Onset and Bacteremia</i>) Bellya Affan Roes, Dewi Kartika T, Basti Andriyoko	233-237
Kadar TSH di <i>Multidrug Resistance Tuberculosis</i> Terkait Etionamid (<i>TSH Level in Multidrug Resistance Tuberculosis Related to Ethionamid</i>) Suparyatmo, B. Rina A.S, Harsini, Musayadah	238-241
TELAAH PUSTAKA	
Perubahan Bentuk Eritrosit di Glomerulonefritis (<i>Erythrocyte Deformation in Glomerulonephritis</i>) Yosepha Dwiyana, Dalima AW Astrawinata	242-248
LAPORAN KASUS	
Perbedaan Golongan Darah ABO di Anemia Hemolitik Autoimun (<i>Discrepancy of Blood Group ABO in Auto Immune Haemolytic</i>) Hilma Yuniar, Rachmawati Muhiddin, Mansyur Arif	249-252
MANAGEMEN LABORATORIUM	
Manajemen Pengetahuan untuk Keselamatan Pasien (<i>Knowledge Management on Patient Safety</i>) Hartono, Rika Subarniati, Widodo J. Pudjirahardjo, FM. Judajana	253-259
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	260-261

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol. 20 No. 3 Juli 2014

JB. Soeparyatmo, Rustadi Sosrosuhardjo, Ninik Sukartini, Budi Mulyono, Jusak Nugraha,
Adi Koesoema Aman, Krisnowati

HUBUNGAN OKSIDA NITRAT DAN NILAI HISTOPATOLOGIS PADA ENDOTOKSEMIA

(Correlation Between Nitric Oxide Levels and Histopathology Scores During Endotoxemia)

Sotianingsih¹, Suharyo², Lisyani S³, Guntur HA⁴

ABSTRACT

Lipopolysaccharide (LPS) is an endotoxin from the outer membrane of Gram-negative bacteria, which has an important role in the occurrence of sepsis. Exposure to LPS will stimulate increase of nitric oxide (NO). Nitric oxide is a bioregulator of apoptosis and has some sepsis prognostic role of apoptosis regulators within the gastrointestinal cells. The objective of the study is to know if endotoxemia induces an increase in NO levels and histopathology scores as well as the existing relationship between them. This study is an observational intervention. The subjects were 48 male mice Balb/C, divided into 2 groups. The samples consisted of 24 tail as control group (group A) and 24 as treatment group (group B). The A group as well as the B group is divided into 4 subgroups according to the time of termination. The levels of NO were examined by Griess method. Histopathology score was examined by HE and read as a score of 0–5. There was a statistically significant difference between the mean NO in the treatment group with the control group at the termination of the group of 12h ($p=0.009$), 24h ($p=0.015$), 36h ($p=0.014$), 48h ($p=0.002$) and the whole group ($p=0.0001$), as well as between the mean histopathology score at the termination time of 12 h ($p=0.0001$), 24h ($p=0.0001$), 36h ($p=0.0001$), 48h ($p=0.0465$) and the whole group ($p=0.0001$). Increase in NO and histopathology scores in all groups of mice ($r=0.527$) showed a statistically significant correlation. NO levels and histopathology scores are increased during endotoxemia and thus have a significant correlation.

Key words: Nitric oxide, lipopolysaccharide, endotoxemia

ABSTRAK

Lipopolisakarida (LPS) terdapat pada membran luar bakteri Gram negatif yang memiliki peran penting terjadinya sepsis. Paparan LPS akan mendorong peningkatan Nitric Oxide (NO). Oksida nitrat adalah bioregulator apoptosis dan peran terkait perjalanan penyakit di pengaturnya, dalam sel pencernaan. Kajian ini bertujuan untuk mengetahui agar dapat menjelaskan endotoksemia yang diimbangi peningkatan kadar NO dan nilai histopatologis serta hubungan yang ada di antaranya. Penelitian ini merupakan intervensi observasional. Subjek 48 ekor mencit Balb/C jantan, dibagi menjadi dua (2) kelompok, yaitu 24 ekor kelompok pembandingan (kelompok A), dan 24 ekor kelompok perlakuan (kelompok B). Kelompok dibagi menjadi empat (4) subkelompok sesuai dengan waktu terminasi. Kadar NO diperiksa dengan metode Gries, nilai histopatologi diperiksa dengan pewarnaan HE dan dibaca dengan nilai 0–5. Hasil amatan menunjukkan ada perbedaan statistik yang bermakna antara NO kelompok perlakuan dan kelompok pembandingan pada terminasi jam ke-12 ($p=0,009$), 24 ($p=0,015$), 36 ($p=0,014$), 48 ($p=0,002$) dan seluruhnya ($p=0,0001$), serta antara rerata nilai histopatologis pada terminasi jam ke-12 ($p=0,0001$), 24 ($p=0,0001$), 36 ($p=0,0001$), 48 ($p=0,465$) dan seluruh kelompok ($p=0,0001$). Peningkatan NO dan nilai histopatologis di semua kelompok mencit ($r=0,527$) ada hubungan yang bermakna secara statistik. Didasari penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa kadar NO dan nilai histopatologis akan meningkat selama endotoksemia dan memiliki hubungan yang bermakna.

Kata kunci: Oksida nitrat, lipopolisakarida, endotoksemia

PENDAHULUAN

Lipopolisakarida (LPS) merupakan toksin di dalam membran luar bakteri Gram negatif yang memiliki peran penting terjadinya sepsis. LPS masuk ke dalam tubuh akan menyebabkan aktivasi kaskade perantara proinflamasi tertentu dan pencegahannya.^{1,2} Paparan LPS akan merangsang peningkatan Nitric Oxide (NO)³, yang dihasilkan dari endotel.⁴ Oksida nitrat merupakan

bioregulator apoptosis. Hasil NO akan berpengaruh dalam mengatur kondisi apoptosis yang berperan pada pembentukan penyakit.⁵ Kejadian apoptosis saluran cerna akan menentukan pemulihan dari sepsis.^{6,7} Proses apoptosis dapat terjadi melalui jalur, yang kejadiannya di mitokondria akan mengakibatkan pelepasan sitokrom c yang kemudian membentuk kompleks *apoptosome* di sitosol. Apoptosis saluran cerna ditandai dengan kejadian perubahan mukosa

¹ Instalasi laboratorium Patologi Klinik RSUD Raden Mattaher, Jambi. E-mail: sotianingsih@yahoo.com
² Guru Besar Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran/Kesehatan Program Pascasarjana Undip Semarang
³ Guru Besar Bagian Patologi Klinik Undip Semarang
⁴ Guru Besar Bagian Ilmu Penyakit Dalam UNS Surakarta

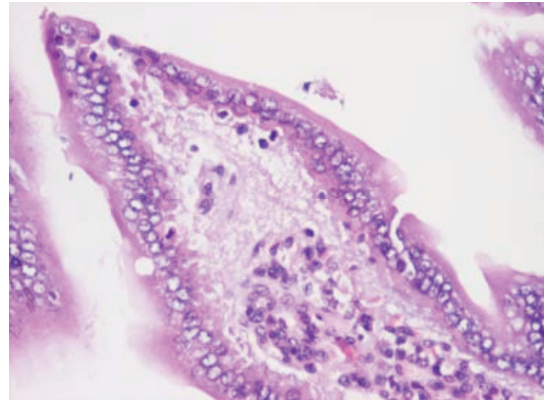
berupa hilangnya *villi* mukosa,⁸ deskuamasi epitel, lamina propria terlepas, pendarahan dan ulserasi.⁹ Pada penelitian ini diajukan permasalahan apakah kondisi endotoksemia menyebabkan kenaikan kadar NO dan nilai gambaran histopatologis sel saluran cerna terdapat hubungan di antaranya? Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menjelaskan bahwa pada kondisi endotoksemia terjadi kenaikan kadar NO dan nilai gambaran histopatologis sel saluran cerna serta ada hubungan di antaranya. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang jalur apoptosis yang terjadi di kondisi endotoksemia, sehingga dapat dicarikan cara menanganinya yang tepat.

METODE

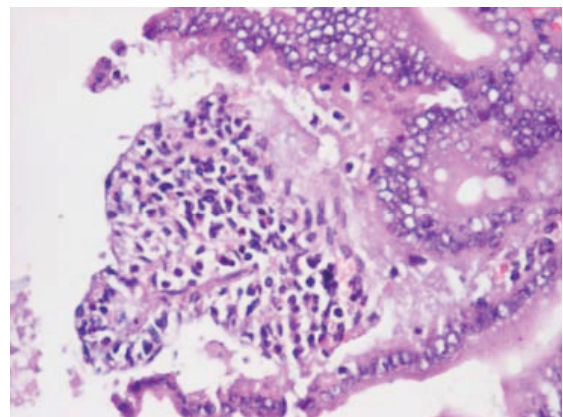
Bahan yang digunakan ialah LPS *Escherichia coli* 0127: B8 L3129 (*Sigma, St Louis, MO*), reagensia NO metode *Griess* dan pewarnaan HE. Penelitian ini bersifat intervensi observasional. Subjek adalah 48 ekor mencit Balb/c jantan dengan berat badan antara 25–35 gram, diperoleh dari LPPT UGM Unit IV. Subjek dibagi menjadi dua (2) kelompok. Sampel terdiri dari 24 ekor kelompok pembanding (kelompok A) disuntik 250 μ L larutan garam steril dalam intra peritoneal, 24 ekor kelompok perlakuan (kelompok B) disuntik dengan 0,1 mg LPS (*Sigma*) dalam 250 μ L larutan yang sama. Kelompok A dibagi menjadi empat (4) subkelompok sesuai jam terminasi, yaitu pada jam ke-12, 24, 36 dan 48,¹⁰ demikian juga yang dilakukan di kelompok B. Semua mencit diambil sampel darahnya dari plexus periorbital sebanyak 1 cc dan diperiksa kadar NO dengan metode *Griess*. Pemeriksaan histopatologis diambil jaringan saluran cerna setelah subjek diterminasi dengan cara dislokasi leher. Jaringan diberi warna HE dan dibaca oleh dua (2) pembaca dengan nilai antara 0–5.¹¹ Pemeriksaan histopatologis dengan pengecatan HE: nilai 0= tidak ada kerusakan mukosa, 1= terdapat kerusakan epitel di ujung *villi*, 2= kerusakan epitel meluas hingga di luar ujung *villi* tanpa terjadinya perpendekkan *villi*, 3= kerusakan sub jumlah keseluruhan *villi*, 4= kehancuran jumlah keseluruhan *villous* dengan kerusakan kriptas ringan sampai sedang, 5= kehancuran jumlah keseluruhan *villi* dan kerusakan kriptas parah (lihat Gambar 1–4) Analisis dilakukan setelah uji kesesuaian antar dua (2) pembaca dan diambil reratanya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

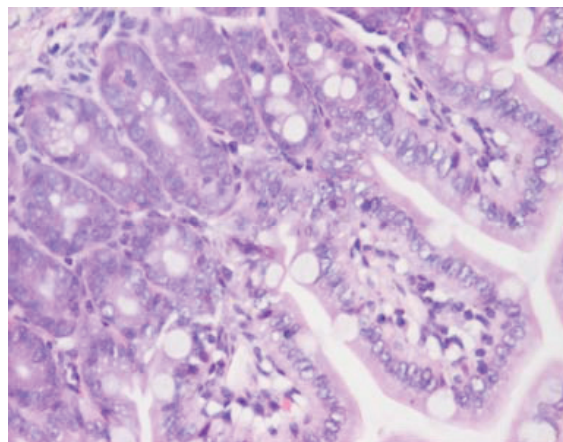
Pada pengamatan terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antara rerata NO kelompok



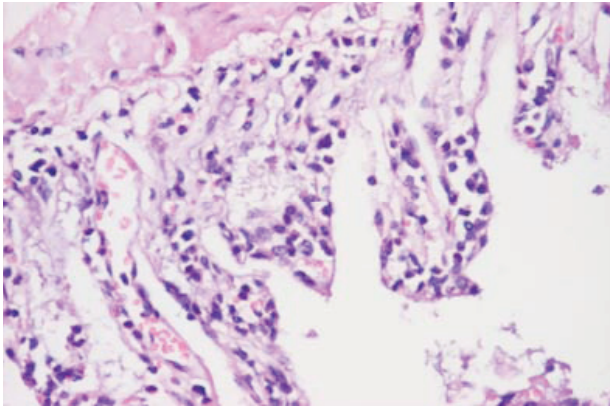
Gambar 1. Pengecatan Hematoksilin dengan nilai 2. Apoptosis terjadi di sel epitel permukaan mukosa saluran cerna yang mengalami pengikisan ringan. Terjadi sembab *villi*, dengan sebaran ringan leukosit pmn dan limfosit.



Gambar 2. Pengecatan Hematoksilin dengan nilai 3. Tampak sel saluran cerna sembab, *villi* memendek, dengan deskuamasi atau kerusakan atap mukosa *villi*. Sebaran sel radang (+)



Gambar 3. Pengecatan HE dengan nilai 4. Tunika serosa menipis sampai menghilang. Terjadi kerusakan di *villi* saluran cerna, kenyataan semua epitel pelapis *villi* menghilang. *Villi* memendek dan tidak tampak potongannya melintang. Tampak sebaran sel radang (+)



Gambar 4. Pengecatan HE di kelompok pembanding. Villi masih utuh dengan beberapa sel *Goblet*, tunika serosa dan muskularis tampak utuh

perlakuan dengan yang pembanding di kelompok pembatasan jam ke-12 ($p=0,009$), 24 ($p=0,015$), 36 ($p=0,014$), 48 ($p=0,002$) dan seluruh kelompok ($p=0,0001$) (lihat Tabel 1); juga antara rerata angka gambaran histopatologis kelompok perlakuan dengan yang pembanding di terminasi jam ke-12 ($p=0,0001$), 24 ($p=0,0001$), 36 ($p=0,0001$), 48 ($p=0,465$) dan seluruh kelompok ($p=0,0001$) (lihat Tabel 2). Di kelompok perlakuan rerata NO dan nilai histopatologis reratanya lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok pembanding (lihat Tabel 1 dan 2).

Nilai gambaran histopatologis subkelompok terminasi jam ke-48 tidak berbeda daripada antara kelompok perlakuan dan yang pembanding ($p=0,465$). Peningkatan NO dan gambaran histopatologis di seluruh kelompok mencit ($r=0,527$) terdapat hubungan yang bermakna secara statistik.

Peningkatan oksida nitrat dan nilai gambaran histopatologis apoptosis sel saluran cerna terjadi dalam kondisi endotoksemia. Peningkatan NO yang disebabkan reaksi inflamasi akibat paparan LPS akan mempengaruhi pengembangan buluh darah (vasodilatasi) dan merupakan sebab utama terjadinya renjatan dalam kondisi endotoksemia.

Pada jam ke-48 tidak ditemukan perbedaan nilai gambaran histopatologis karena hal tersebut di kelompok perlakuan mengalami penurunan, sehingga tidak berbeda dengan yang pembanding. Terdapat kenasaban antara NO dan nilai gambaran histopatologis yang berarti peningkatan NO merupakan bioregulator apoptosis, sehingga terjadi peningkatan gambarannya di sel saluran cerna.

SIMPULAN DAN SARAN

Dalam kondisi endotoksemia akan terjadi peningkatan kadar NO dan kenaikan angka gambaran histopatologis sel saluran cerna pada jam ke-12, 24 dan 36, yang masing-masing mempunyai kenasaban.

Tabel 1. Uji beda rerata NO antara kelompok perlakuan dan yang pembanding

	Kelompok LPS ($\mu\text{mol/liter}$)				Kelompok larutan garam ($\mu\text{mol/liter}$)				P
	Rerata \pm SB (SD)	Median	Min	Max	Rerata \pm SB (SD)	Median	Min	Max	
NO_1	176,185 \pm 49,40	206,81	110,80	210,10	107,92 \pm 47,92	87,21	76,33	203,11	0,009 ^a
NO_2	174,39 \pm 46,36	200,45	107,51	210,10	88,43 \pm 42,02	90,28	34,48	148,95	0,015 ^a
NO_3	123,58 \pm 43,30	118,18	76,33	171,52	60,48 \pm 17,99	63,41	36,59	80,84	0,014 ^b
NO_4	123,28 \pm 28,08	119,41	95,04	174,9	79,14 \pm 16,21	83,52	47,20	93,15	0,002 ^a
NO	149,35 \pm 47,72	135,21	76,33	210,10	83,99 \pm 36,27	82,28	34,48	203,11	0,0001 ^a

^a uji nontolak ukur/Mann Whitney

^b uji tolak ukur/uji t

Tabel 2. Uji beda rerata angka gambaran histopatologi antara kelompok perlakuan dan pembanding

	Kelompok LPS ($\mu\text{mol/liter}$)				Kelompok larutan garam ($\mu\text{mol/liter}$)				P
	Rerata \pm SB (SD)	Median	Min	Max	Rerata \pm SB (SD)	Median	Min	Max	
HE_1	3,30 \pm 0,18	3,30	3,10	3,50	0,37 \pm 0,16	0,35	0,20	0,60	0,0001 ^b
HE_2	2,22 \pm 0,15	2,26	2,00	2,40	0,50 \pm 0,15	0,50	0,30	0,70	0,0001 ^b
HE_3	1,42 \pm 0,15	1,45	1,20	1,60	0,52 \pm 0,12	0,50	0,40	0,70	0,0001 ^b
HE_4	0,52 \pm 0,19	0,45	0,30	0,80	0,43 \pm 0,191	0,40	0,20	0,70	0,465 ^b
HE	1,86 \pm 1,06	1,80	0,303	3,50	0,45 \pm 0,6	0,40	0,20	0,70	0,0001 ^b

^a uji nontolak ukur/Mann Whitney

^b uji tolak ukur/uji t

DAFTAR PUSTAKA

1. Guntur HA. Perkembangan Immunopatobiogenesis pada SIRS dan Sepsis. Dalam: SIRS, Sepsis dan Syok Septik (Imunologi, Diagnosis, Penatalaksanaan). 1st Ed., Surakarta, Sebelas Maret University Press, 2006; 37–48.
2. Rudiger A, Stotz M, Singer M. Cellular Processes in Sepsis (Peer Reviewed Article). *Swiss Med Wklt*, 2008; 138 (43–4): 629–34.
3. Reade A, Stotz M. of Mice and Men (and Rats): Implications of Species and Stimulus Differences for the Interpretation of Studies of Nitric Oxide in Sepsis. *BJA*, 2003; 90 (2) editorial I: 115–8.
4. Salvemini D, Korbut R, Anggard E, Vane J. Immediate Release of a Nitric Oxide-Like Factor from Bovine Aortic Endothelial Cells by *Escherichia coli* Lipopolysaccharide. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 1990; 87: 2593–7.
5. Chung H, Pae H, Choi B, Billiar TK, Kim Y. Nitric Oxide as a Bioregulator of Apoptosis (Breakthroughs and Views). *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 282: 1075–9.
6. Husain KD and Coopersmith CM. Role of Intestinal Epithelial Apoptosis in Survival. *Curr Opin Crit Care*. 2003; 9 (2): 159–63.
7. Messaris E, Kekis P, Memos N, et al. Sepsis: Prognostic Role of Apoptosis Regulators in Gastrointestinal Cells. *World J Surg*. 2007; 31 (4): 787–94.
8. Hall PA, Coates PJ, Ansari B, Hopwood D. Regulation of Cell Number in the Mammalian Gastrointestinal Tract: the Importance of Apoptosis. *JCS*. 1994; 107: 3569–77.
9. Jiang LY, Zhang M, Zhou TE, Yang ZF, Wen LQ, Chang JX. Changes of the Immunological Barrier of Intestinal Mucosa in Rats with Sepsis. *World J Emerg Med*. 2010; 1 (2): 138–43.
10. Sotianingsih, Suharyo, Lisyani S, Guntur HA. Gambaran Klinis Sepsis dan Kadar Nitric Oxide pada Mencit yang Diimbas dengan LPS. *IJCP* 2013; 19 (2): 65–8.
11. Chae S, Eckmann L, Miyamoto Y, Pothoulalu Ch, Karin M, Kagnoff MF. Epithelial Cell I κ B-Kinase β Has an Important Protective Role in *Clostridium Difficile* Toxin a-Induced Mucosal Injury. *J Immunol*. 2006; 177: 1214–20.