

**PENGARUH KORTIKOSTEROID DOSIS RENDAH
TERHADAP HITUNG LIMFOSIT DI LIEN
MENCIT BALB/C MODEL SEPSIS
PAPARAN LIPOPOLISAKARIDA**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Noer Azizah
G.0005141**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2009**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Sepsis merupakan respon imun sistemik terutama terhadap infeksi bakteri dan ditandai dengan sejumlah gejala klinis (Corral *et al.*, 2005; Gatot, 2008). Respon imun tersebut menyebabkan terjadinya aktivasi dari berbagai mediator inflamasi, termasuk sitokin, leukosit, dan jaringan hemostatik, dan koagulasi yang masing-masing dapat berperan terhadap terjadinya sepsis. Perubahan hemodinamik, gangguan mikrosirkulasi yang tersebar luas dan perubahan seluler menyebabkan aliran darah tidak mencukupi untuk kebutuhan metabolik sehingga dapat berkembang menjadi *Multiple Organ Dysfunction* (MOD), akhirnya akan menyebabkan kematian (Corral *et al.*, 2005; Garrido *et al.*, 2004).

Sampai saat ini sepsis masih menjadi masalah baik di negara berkembang maupun negara maju, baik dari segi morbiditas, mortalitas, maupun ekonomi (Gatot, 2008). Kejadian sepsis di Amerika Serikat kira-kira 700.000 kasus pertahun dengan tingkat kematian hampir 30% (Wesche-Soldato *et al.*, 2007). Sepsis menjadi masalah tiap tahunnya karena ribuan orang meninggal tiap tahunnya (Remick, 2007). Mortalitas sepsis bervariasi antara 40% pada kasus tanpa komplikasi hingga 80% pada kasus dengan syok septik dan disfungsi multiorgan. Di bagian *Pediatric Intensive Care Unit* (PICU)/*Neonatal Intensive Care Unit*

(NICU) Rumah Sakit Dokter Moewardi (RSDM) selama Januari 2006-Desember 2007 terdapat angka kejadian sepsis 33,5% dengan mortalitas sebesar 50,2% (Pudjiastuti, 2008).

Sepsis disebabkan oleh bakteri gram negatif (70%), bakteri gram positif (20-40%), jamur dan virus (2-3%), protozoa (Iskandar, 2002). Produk bakteri yang berperan penting pada sepsis adalah lipopolisakarida (LPS) yang merupakan komponen utama membran terluar bakteri gram negatif dan berperan terhadap timbulnya syok sepsis (Guntur, 2008; Cirioni *et al.*, 2006). LPS mengaktifkan respon inflamasi sistemik (*Systemic Inflammatory Response Syndrome/SIRS*) yang dapat mengakibatkan syok serta *Multiple Organ Failure* (MOF) (Arul, 2001).

Apoptosis berperan dalam terjadinya patofisiologi sepsis dan mekanisme kematian sel pada sepsis (Hotchkiss dan Irene, 2003; Chang *et al.*, 2007). Pada pasien sepsis akan terjadi peningkatan apoptosis limfosit lebih besar dari 25% total limfosit di lien (Irene, 2007).

Limfosit merupakan sel kritis yang merespon terhadap sepsis, dan interaksi antara sistem imun langsung dan tidak langsung meningkat. Apoptosis limfosit terlihat pada semua organ limfoid, diantaranya lien, timus, dan juga jaringan limfatik yang berhubungan dengan lambung. Apoptosis limfosit dapat menjadi penyebab penurunan fungsi limfosit pada pasien sepsis (Remick, 2007).

Lien merupakan nodul besar jaringan limfoid. Lien termasuk dalam sistem sirkulasi, seperti halnya nodus limfatikus. Fungsi lien adalah

sebagai sumber limfosit segar bagi aliran darah dan sebagai tempat menghancurkan sel-sel darah merah (Watson, 2002).

Penatalaksanaan sepsis pada aspek klinik merupakan hal yang sulit. Perkembangan terapi pengobatan yang berpengaruh terhadap tingkat kesakitan dan tingkat kematian pada sepsis masih rumit dengan banyaknya obat antiinflamasi dan antikoagulan yang memperlihatkan hasil pada tingkat penelitian, tapi belum menunjukkan ketahanan yang bermakna pada manusia (Wesche-Soldato et al., 2007)

Kortikosteroid banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi karena kemampuannya dalam berinteraksi dengan respon imun (Djillali *et al.*, 2003; Huiqing *et al.*, 2007). Penggunaan kortikosteroid dosis rendah pada sepsis tahap awal masih menjadi perdebatan (Djillali *et al.*, 2002). Telah diterangkan bahwa penggunaan kortikosteroid dosis tinggi jangka pendek tidak menunjukkan efek yang bermakna. Namun banyak penelitian baru yang menggunakan dosis lebih rendah jangka panjang dan memperlihatkan efek yang bermakna. Efek positif ini juga dapat memulihkan syok, menurunkan disfungsi sistem organ dan menurunkan tingkat mortalitas (Goodman *et al.*, 2002).

Titik tangkap pemberian kortikosteroid dosis rendah pada sepsis adalah mengurangi respon inflamasi sistemik, sebagai vasopressor, menghambat produksi sitokin proinflamasi, mediator-mediator inflamasi, dan menurunkan adhesi leukosit ke endotel (Djillali dan Caillon, 2003; Rhen dan Cidlowski, 2005).

Berdasarkan pernyataan-pernyataan di atas penulis ingin meneliti kemampuan kortikosteroid dosis rendah dalam kejadian sepsis sebagai proses penurunan sistem imun akibat apoptosis limfosit sebagai penyebab utamanya.

B. Rumusan Masalah

Adakah pengaruh kortikosteroid dosis rendah terhadap hitung limfosit di lien mencit Balb/C model sepsis paparan LPS?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kortikosteroid dosis rendah terhadap hitung limfosit di lien mencit Balb/C model sepsis paparan LPS.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis :

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh kortikosteroid dosis rendah terhadap hitung limfosit di lien mencit Balb/C model sepsis paparan lipopolisakarida.

2. Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan untuk penelitian lebih lanjut.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Sepsis

Sepsis merupakan reaksi akut dan sistemik dari respon imun terhadap rangsangan infeksi bakteri (Xiao *et al.*, 2005). Sepsis adalah suatu sindroma klinik sebagai manifestasi proses inflamasi imunologik yang terjadi karena adanya respon tubuh (imunitas) yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme. Sindroma klinis dari sepsis tersebut ditandai dengan takipneu (frekuensi respirasi > 20 kali/menit), takikardi (frekuensi jantung > 100 kali/menit), hyperthermia atau hypothermia (temperature axilar tubuh > 38,3°C atau 35,6°C), leukositosis (> 12.000 sel/mm), leukopeni (< 4000 sel/mm) dengan atau tanpa ditemukannya bakteri dalam darah (Guntur, 2008; Gatot, 2008; Djoko, 2008).

Sepsis dan syok sepsis disebabkan oleh bakteri gram negatif, bakteri gram positif, jamur, virus, dan parasit (Edwin *et al.*, 2003). Produk yang berperan penting terhadap sepsis adalah LPS, terutama kandungan lipid A dalam LPS tersebut. LPS merupakan struktur dominan pada membran luar bakteri gram negatif (Qin *et al.*, 2005; Guntur, 2008).

Dalam aliran darah LPS akan terikat pada protein yang bersirkulasi, kemudian berinteraksi dengan reseptor makrofag, limfosit dan monosit serta sel lain pada sistem retikuloendotelial. Hal ini akan mengakibatkan pelepasan sitokin dan pengaktifan jalur komplemen dan koagulasi (Brooks *et al.*, 2003).

Pada fase dini terjadi kenaikan limfosit, Interleukin-6 (IL-6), dan faktor-faktor lain yang mengindikasikan stimulasi sistem imun dan menimbulkan keadaan inflamasi berlebih (Xiao *et al.*, 2006).

Sitokin proinflamasi yang disertai adanya proses apoptosis mempunyai peranan penting dalam menentukan derajat kerusakan jaringan dan kegagalan fungsi organ, serta cepat lambatnya terjadinya syok sepsis (Gatot, 2008).

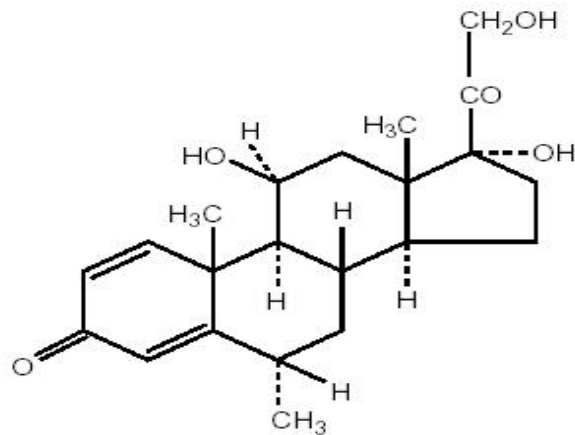
Apoptosis adalah suatu proses fisiologis dimana sel dihapus dengan suatu cara yang dikendalikan dengan kontrol genetik, kondensasi, dan fragmentasi DNA disusul dengan pengerutan sel untuk membatasi kerusakan yang berlebihan terhadap lingkungan sekitarnya (Wesche *et al.*, 2005; Guntur, 2008).

Sel-sel imun yang paling terlihat mengalami disregulasi apoptosis ini adalah limfosit. Pada sel T lien apoptosis merupakan penggerak utama kematian reseptor. Apoptosis yang terjadi di lien penting dalam menimbulkan mortalitas pada sepsis, hal ini terlihat karena adanya peningkatan apoptosis limfosit lien pada hewan coba

akan mengakibatkan penurunan survival (Wesche-Soldato *et al.*, 2007).

2. Kortikosteroid

Kortikosteroid banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi karena kemampuannya dalam berinteraksi dengan respon imun (Djillali *et al.*, 2004). Efek dari kortikosteroid pada infeksi adalah menyebabkan terjadinya penurunan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi. Peran kortikosteroid dosis rendah adalah untuk menekan atau mengurangi efek sitokin, terutama sitokin proinflamasi sehingga terjadi keseimbangan sitokin proinflamasi dengan antiinflamasi. Kortikosteroid dosis rendah juga dapat meningkatkan angka ketahanan hidup. Terhadap apoptosis, kortikosteroid atau glukokortikoid juga menunjukkan efek potensiasi dan supresi pada proses apoptosis, yang tampaknya bersifat spesifik terhadap sel atau jaringan. Efek kortikosteroid dosis rendah pada lingkungan eksperimental pada hewan percobaan sepsis pada onset apoptosis pada jaringan imun atau non-imun masih belum dipahami (Guntur, 2008).



Gambar 2.1. Rumus Bangun *Methylprednisolone*

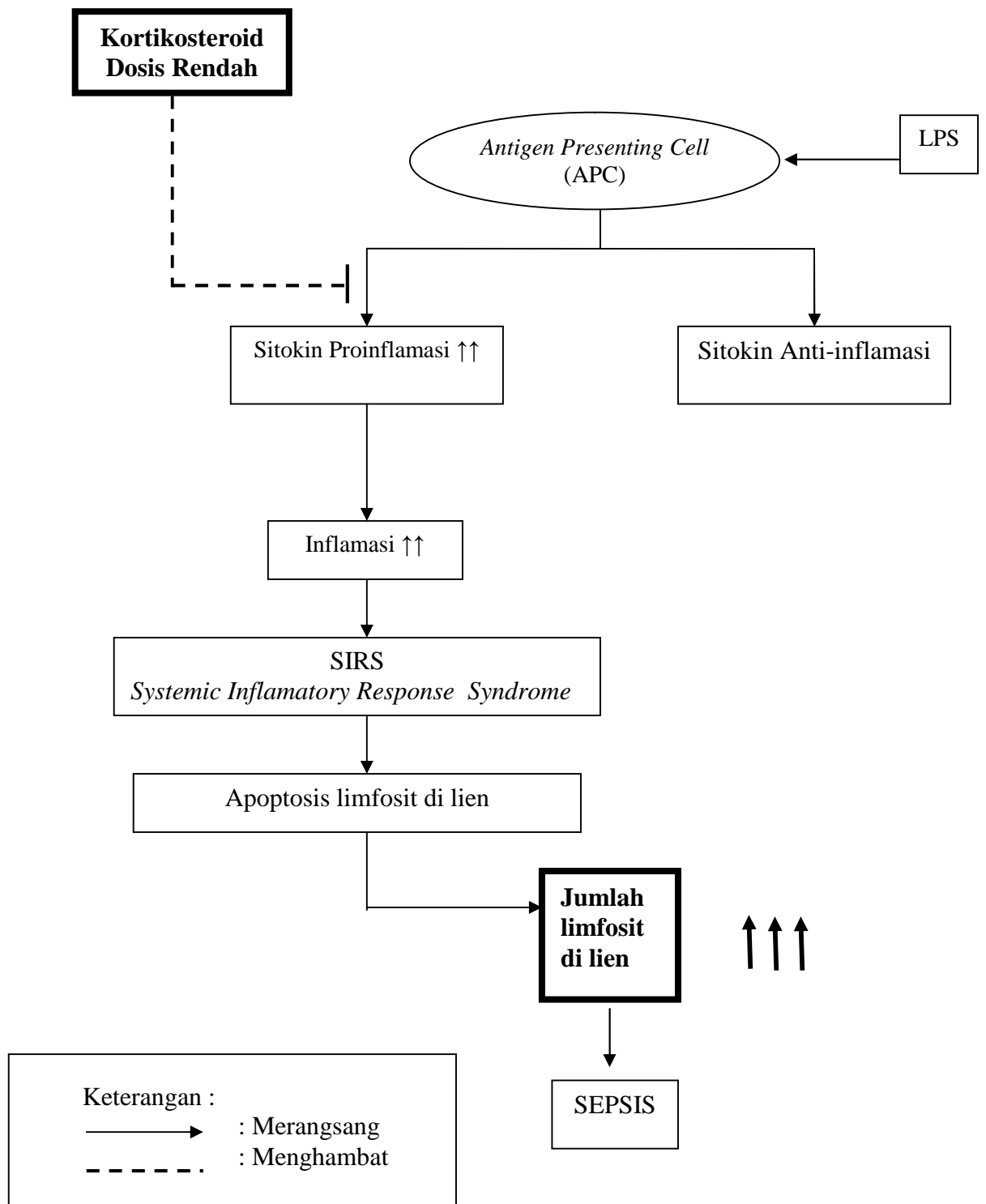
3. Lien

Di dalam tubuh lien merupakan organ limfoid terbesar dan satu-satunya organ yang termasuk dalam sirkulasi darah. Karena kemampuannya dalam memfagosit sel, lien berperan untuk pertahanan dengan melawan antigen yang masuk ke dalam sirkulasi. Lien juga berfungsi dalam memproduksi limfosit yang akan dikirim ke darah dan juga berfungsi dalam menghancurkan limfosit. Lien bereaksi secara cepat terhadap antigen yang masuk ke darah dan juga berfungsi untuk memfilter dan sebagai organ pembentuk antibodi. Lien dikelilingi oleh kapsul yang terdiri dari jaringan ikat padat dari trabekula. Terdiri dari parenkim atau pulpa lien ke dalam kompartemen inkomplit. Pada manusia, jaringan pengikat dari kapsul dan trabekula terdiri dari hanya sel otot polos. Lien terbentuk dari hubungan antara jaringan retikuler yang terdiri dari sel retikuler, limfosit dan sel darah yang lain, makrofag, dan *Antigen Presenting Cells* (APC). Pulpa lien terdiri dari

dua komponen, pulpa putih dan pulpa merah. Pulpa putih lien adalah bagian yang berperan dalam produksi limfosit, kemudian akan berpindah ke pulpa merah dan menuju sinusoid dimana akan masuk ke dalam sirkulasi darah (Gartner dan Hiatt, 2007; Junqueira dan Carneiro, 2005).

B. Kerangka Pemikiran

1. Kerangka Berpikir Konseptual



Gambar 2.2. Kerangka Berpikir Konseptual

2. Kerangka Berpikir Teoritis

Sepsis adalah suatu sindroma klinik sebagai manifestasi proses inflamasi imunologik yang terjadi karena adanya respon tubuh (imunitas) yang berlebihan terhadap rangsangan produk mikroorganisme (Guntur, 2008; Gatot, 2008; Djoko, 2008).

Masuknya mikroorganisme penginfeksi ke dalam tubuh akan menimbulkan reaksi yang berlebihan dari sistem imun dan menyebabkan aktivasi APC yang akan mempresentasikan mikroorganisme tersebut ke limfosit. APC akan mengeluarkan mediator-mediator proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6, C5a dan lainnya, yang menimbulkan SIRS dan *MOD* yang dihasilkan oleh sel limfosit akan menyebabkan limfosit teraktivasi dan berproliferasi serta berdiferensiasi menjadi sel efektor (Abbas dan Litchman, 2005; Remick, 2007)

Sel limfosit yang telah berdiferensiasi ini kemudian akan mengeluarkan mediator-mediator proinflamasi yang berlebihan tanpa diimbangi mediator antiinflamasi yang memadai. Ketidakseimbangan antara proinflamasi dan antiinflamasi ini kemudian akan menimbulkan keadaan hiperinflamasi sel endotel yang selanjutnya akan menyebabkan rangkaian kerusakan hingga kegagalan organ yang merugikan (Guntur, 2008).

Sel-sel imun yang paling terlihat mengalami disregulasi apoptosis ini adalah limfosit (Wesche-Soldato *et al.*, 2007). Apoptosis limfosit ini terjadi pada semua organ limfoid seperti lien dan timus (Hotchkiss *et al.*, 2005). Apoptosis limfosit juga berperan penting terhadap terjadinya patofisiologi sepsis (Chang *et al.*, 2007). Apoptosis limfosit dapat menjadi penyebab berkurangnya fungsi limfosit pada pasien sepsis (Remick, 2007).

Kortikosteroid banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi karena kemampuannya dalam berinteraksi dengan respon imun (Djillali *et al.*, 2003; Huiqing *et al.*, 2007). Efek kortikosteroid pada infeksi adalah menyebabkan terjadinya penurunan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi (Guntur, 2008).

C. Hipotesis

Kortikosteroid dosis rendah meningkatkan jumlah limfosit di lien mencit Balb/C model sepsis paparan LPS.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design*.

B. Lokasi penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Subjek Penelitian

Subjek penelitian berupa 42 ekor mencit Balb/C jantan dengan berat badan \pm 20-35 gram dan berumur 4-6 minggu. Mencit Balb/C diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Setia Budi, Surakarta. Bahan makanan mencit digunakan pakan mencit BR I.

D. Teknik Sampling

Untuk pengambilan sampel digunakan teknik *incidental sampling*. Pencuplikan seenaknya/sekenanya (= *convenience sampling*, *haphazard sampling*, *grab sampling*, *incidental sampling*) merupakan metode pencuplikan non-random yang mencuplik subjek dari populasi

sasaran dengan cara dental/mencomot (=grab) begitu saja subjek penelitian (Murti, 2006).

Hewan yang akan diuji telah tersedia 42 ekor mencit Balb/c, kemudian dibagi menjadi 7 kelompok. Tiap kelompok terdiri dari 6 ekor yang dipilih secara acak.

Untuk menentukan jumlah sampel digunakan rumus *Federer*, yaitu:

$$(k-1).(n-1) \geq 15$$

$$(7-1).(n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 15/6$$

$$n \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } 4 \text{ (Purawisastra, 2001).}$$

Keterangan :

k : jumlah kelompok penelitian

n : jumlah sampel yang akan diteliti

Sehingga jumlah sampel mencit yang akan diuji sebanyak 6 ekor tiap kelompok.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : Kortikosteroid dosis rendah
2. Variabel Terikat : Jumlah limfosit di lien
3. Variabel Luar
 - a. Dapat dikendalikan
 - 1) Genetik
 - 2) Berat badan

- 3) Makanan
 - 4) Umur
- b. Tidak dapat dikendalikan : Variasi kepekaan mencit terhadap suatu zat

F. Skala Variabel

1. Kortikosteroid dosis rendah : skala nominal
2. Hitung limfosit di lien : skala rasio

G. Definisi Operasional

1. Mencit model sepsis

Untuk membuat model sepsis pada hewan coba untuk uji imunitas, dilakukan inokulasi LPS (*E.coli*) yang diperoleh dari Sigma Aldrich (Deisenhofen, *Germany*) dengan dosis kecil yaitu 0,1 mg/mencit/*i.p* (Wang *et al.*, 2006; Kruzel *et al.*, 2002).

2. Pemberian Kortikosteroid Dosis Rendah

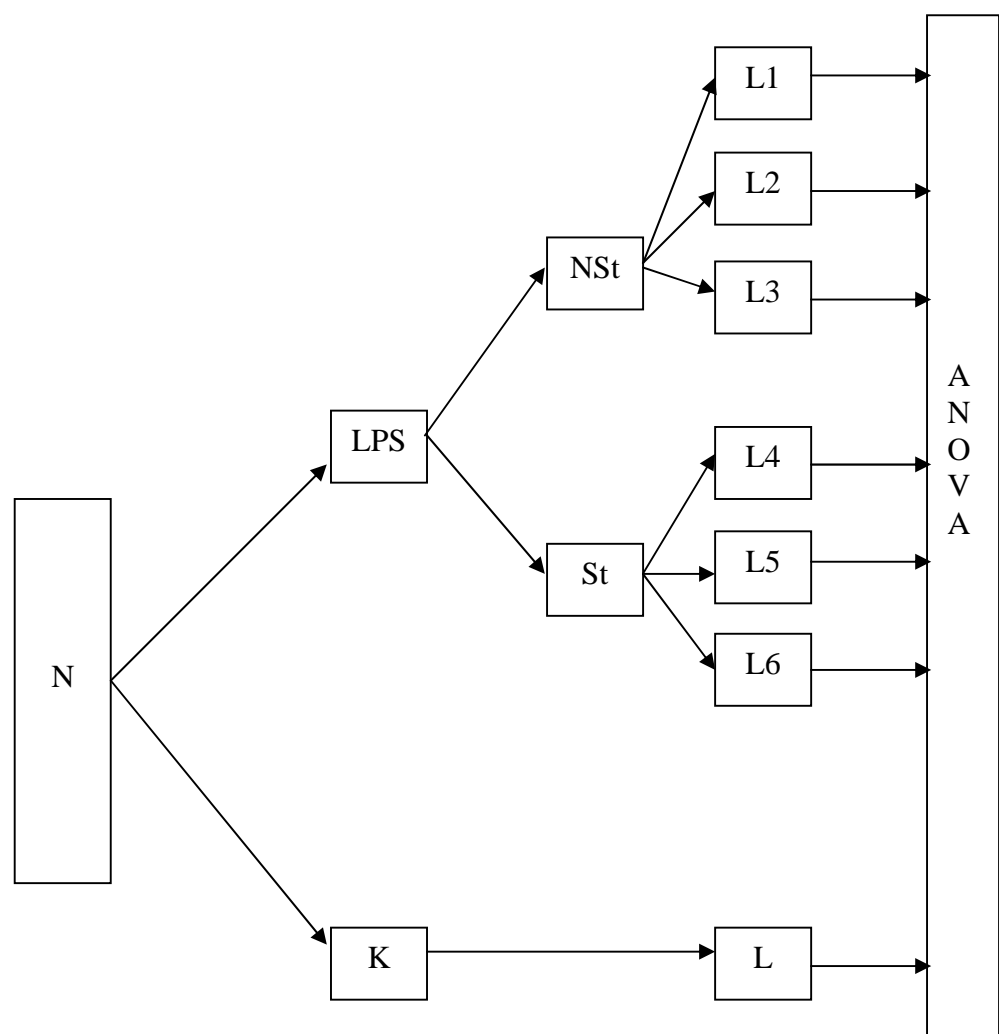
Kortikosteroid dosis rendah yang digunakan adalah *methyl prednisolone* dengan dosis 0,05 mg/mencit dua kali sehari secara *intraperitoneal*.

3. Hitung Jumlah Limfosit di Lien

Setelah mencit dikorbankan dengan cara *cervical dyslocation*, diambil jaringan lien sepanjang 1,5 cm. Kemudian direndam larutan buffer 10% selama 10 jam, setelah itu di blok parafin. Selanjutnya

dilakukan potongan serial terhadap blok parafin tersebut untuk dibuat slide masing-masing 3 buah. Dengan mikroskop cahaya dilihat jumlah seluruh sel limfosit dengan perbesaran 1000 kali. Tiap 3 lapang pandang dilihat dan diambil reratanya.

H. Rancangan Penelitian



Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

N : Jumlah mencit yang digunakan

K : Kelompok kontrol negatif

NSt : Kelompok perlakuan tanpa pemberian kortikosteroid dosis rendah

St : Kelompok perlakuan dengan pemberian kortikosteroid dosis rendah
0,05 mg/mencit/*intraperitoneal* 2x sehari

L : Hitung sel limfosit kelompok kontrol

L1 : Hitung sel limfosit kelompok NSt pada hari ke-3

L2 : Hitung sel limfosit kelompok NSt pada hari ke-5

L3 : Hitung sel limfosit kelompok NSt pada hari ke-7

L4 : Hitung sel limfosit kelompok St pada hari ke-3

L5 : Hitung sel limfosit kelompok St pada hari ke-5

L6 : Hitung sel limfosit kelompok St pada hari ke-7

I. Instrumentasi Penelitian

1. Alat penelitian

- a. Kandang hewan percobaan (ukuran 30x38x15 cm³)
- b. Timbangan *camry*
- c. Spuit tuberkulin 1 cc
- d. Pipet ukur 1 ml
- e. Labu takar 5 ml
- f. *Beaker glass* 5 ml
- g. Mikroskop cahaya *Olympus*
- h. Objek glass
- i. Alat bedah minor
- j. Timbangan Listrik *Mettler Toledo*

2. Bahan penelitian

- a. Bahan Perlakuan : Kortikosteroid (*methylprednisolone*) dosis rendah, Aqua bides, Lipopolisakarida (LPS), *Phosphate-Buffered*

Saline (PBS), Aquades, Hewan uji (42 ekor Mencit Balb/c), Makanan hewan uji (pellet dan air pam).

- b. Bahan Pembuatan Preparat : Organ lien mencit setelah perlakuan dan kontrol, alkohol bertingkat (60%, 70%, 80%, 90%), xylol, parafin, pewarna Hematoksin dan Eosin, Aquades.

J. Penentuan Dosis

1. Lipopolisakarida

Lipopolisakarida (LPS) yang diperoleh dari Sigma Aldrich (Deisenhofen, Germany) sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 10 ml PBS (*Phosphat buffered Saline*). Untuk membuat model sepsis pada hewan coba untuk uji imunitas, dilakukan inokulasi LPS (*E.coli*) secara *intraperitoneal* dengan dosis 0,1 mg/mencit (Wang et al, 2002). Sehingga dosis yang diinjeksikan permencit adalah 0,1 ml *intraperitoneal*.

2. Kortikosteroid Dosis Rendah

Dosis rendah *Methyl Prednisolone* untuk manusia perharinya adalah 40 mg. *Methyl Prednisolone* sebanyak 125 mg dilarutkan ke dalam 125 ml aqua bides. Dosis obat yang digunakan untuk mencit $0,0026 \times$ dosis pada manusia (Suhardjono, 1995).

$$\begin{aligned} \text{Jadi dosis } \textit{Methyl Prednisolone} \text{ pada mencit} &= 0,0026 \times 40 \text{ mg} \\ &= 0,104 \text{ mg/mencit} \end{aligned}$$

Sementara dosis yang diberikan pada Mencit Balb/c dibulatkan menjadi 0,1 mg/mencit/hari. Sedangkan dosis yang diberikan adalah 0,05 ml/mencit/*intraperitoneal*.

K. Cara Kerja

1. Sebelum perlakuan
 - a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi laboratorium tempat penelitian dilakukan selama kurang lebih 1 minggu.
 - b. Hewan uji ditimbang lalu dikelompokkan secara acak menjadi 7 kelompok. Masing-masing terdiri dari 6 ekor Mencit Balb/c.

2. Pemberian perlakuan

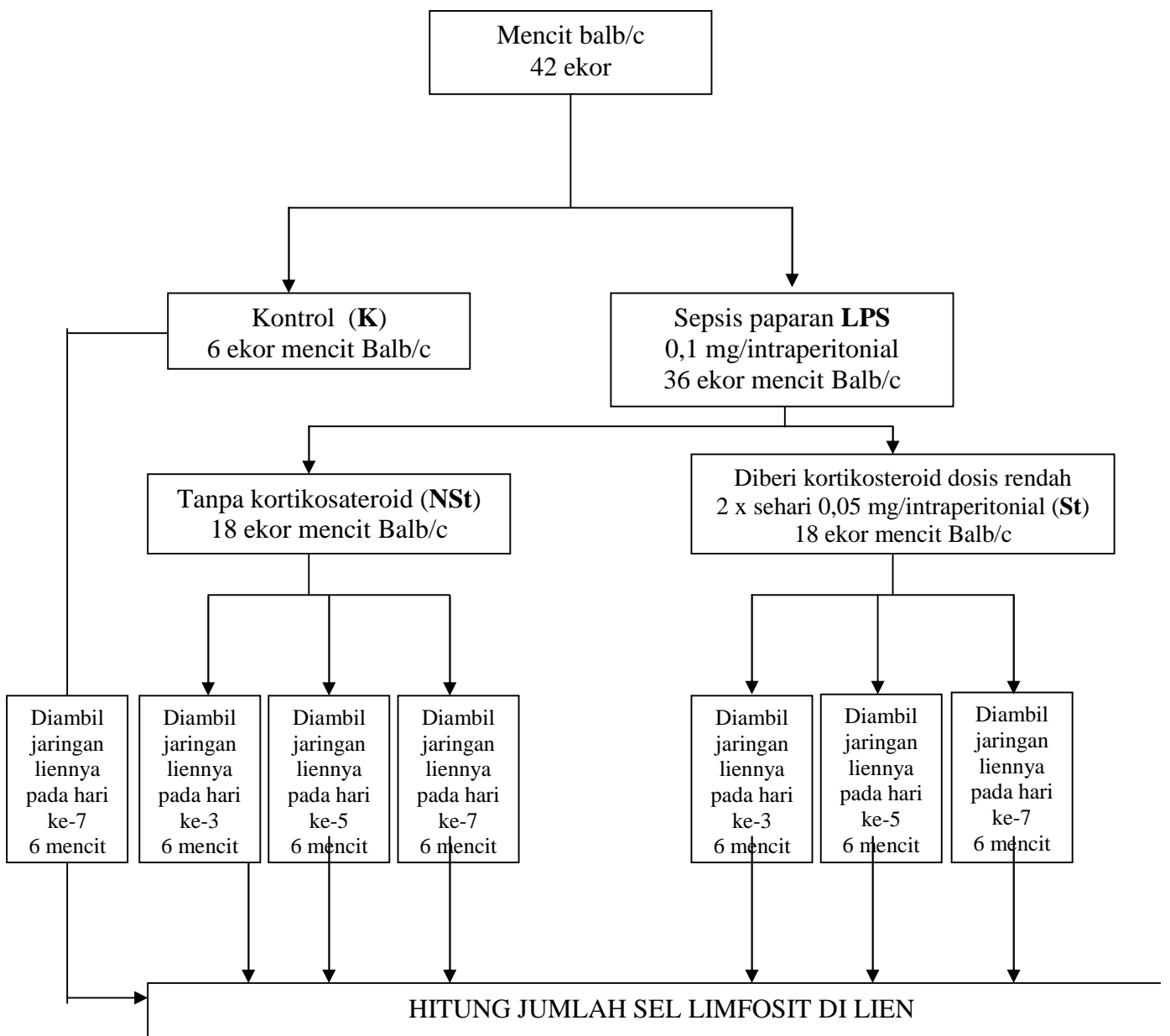
Sejak hari ke-0 sampai dengan hari ke-7, diberi diet standar seluruh kelompok. Pada hari ke-0 kelompok LPS disuntik LPS 0,1 mg/*intraperitoneal*. Mulai pada hari ke-0 kelompok St disuntikan kortikosteroid dengan dosis 0,05 mg/*intraperitoneal* dua kali sehari.

3. Setelah perlakuan

Mencit diambil jaringan liennya sesuai dengan kelompok pada percobaan. Pada hari ke-3 dilakukan pengambilan jaringan liennya dari kelompok St dan NSt masing-masing 6 ekor mencit. Pada hari ke-5 dilakukan pengambilan jaringan liennya dari kelompok St dan NSt masing-masing 6 ekor mencit. Pada hari ke-7 dilakukan pengambilan jaringan liennya dari kelompok St dan NSt dan kontrol masing-masing 6 ekor mencit. Kemudian setelah dilakukan pengambilan jaringan

liennya dilakukan perhitungan jumlah sel limfosit secara manual dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali.

L. Alur Penelitian



Gambar 3.2. Skema Alur Penelitian

M. Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk hari pertama. Untuk data hari ke-3, ke-5, dan ke-7 dianalisis dengan uji t.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Kinetik Pengaruh Kortikosteroid Dosis Rendah pada Hitung Limfosit di Lien

Dari masing-masing kelompok perlakuan pada penelitian ini didapatkan adanya perbedaan jumlah limfosit. Hal ini terlihat dari adanya perbedaan yang bermakna dari hasil uji statistik menggunakan *one way ANOVA*.

Dari hasil penelitian pada kelompok kontrol memperlihatkan jumlah limfosit di lien 9.7 ± 4.3 sel/lapangan pandangan. Pemberian LPS pada penelitian ini menunjukkan penurunan jumlah limfosit di lien secara bermakna ($p=0.008$) pada hari ke-3 (5.0 ± 1.1 sel/lapangan pandang) dan peningkatan limfosit di lien pada hari ke-5 (12.3 ± 1.8 sel/lapangan pandang) dan terus meningkat secara bermakna ($p=0.042$) hingga hari ke-7 (13.2 ± 3.3 sel/lapangan pandang). Pemberian kortikosteroid dosis rendah pada kelompok steroid memperlihatkan penurunan jumlah limfosit di lien pada hari ke-3 (9.5 ± 2.6 sel/lapangan pandangan), namun pada hari ke-5 mengalami peningkatan jumlah limfosit secara bermakna ($p=0,000$) yaitu sebanyak 16.3 ± 3.9 sel/lapngan pandangan, sedangkan pada hari ke-7 mengalami penurunan hingga 7.3 ± 1.8 sel/lapangan pandangan. Hal tersebut diatas seperti diperlihatkan pada tabel 4.1 dan tabel 4.2.

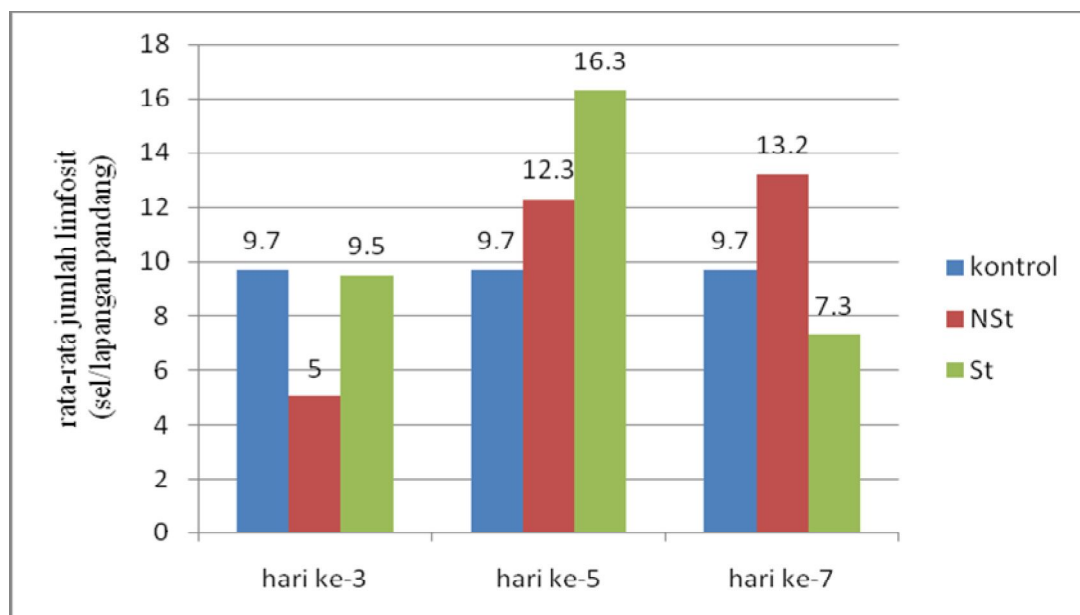
Tabel 4.1. Rata-Rata Hitung Limfosit di Lien Masing-Masing Kelompok

Kelompok	Mean \pm SD
Kontrol	9.7 \pm 4.3
lps hari ke-3	5.0 \pm 1.1
lps hari ke-5	12.3 \pm 1.8
lps hari ke-7	13.2 \pm 3.3
steroid hari ke-3	9.5 \pm 2.6
steroid hari ke-5	16.3 \pm 3.9
steroid hari ke-7	7.3 \pm 1.8

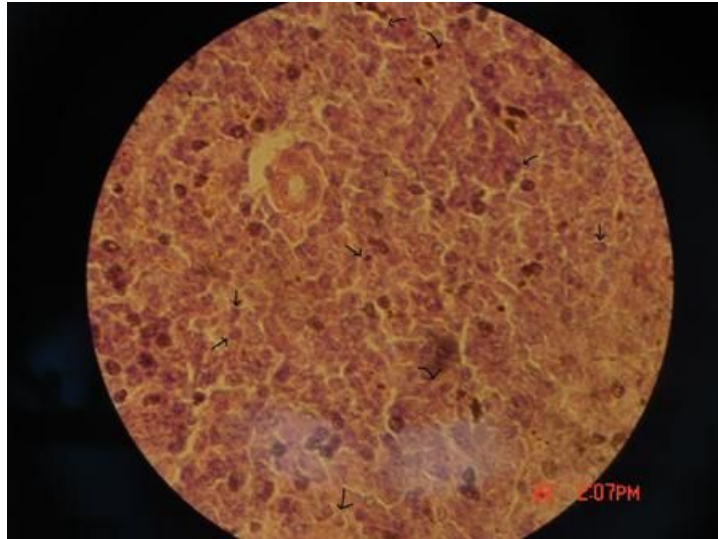
Keterangan: SD: *Std. Deviation*; lps:lipopolisakarida

Tabel 4.2. Tingkat Kemaknaan Antara Kelompok Kontrol dengan Masing- Masing Kelompok Perlakuan

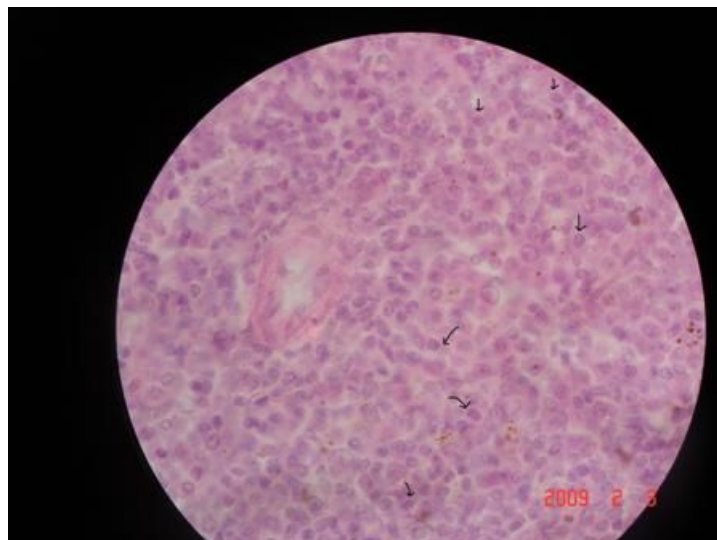
	Kelompok Perlakuan	<i>p value</i>
Kontrol	Lps hari ke-3	.008
	Lps hari ke-5	.117
	Lps hari ke-7	.042
	steroid hari ke-3	.921
	steroid hari ke-5	.000
	steroid hari ke-7	.169



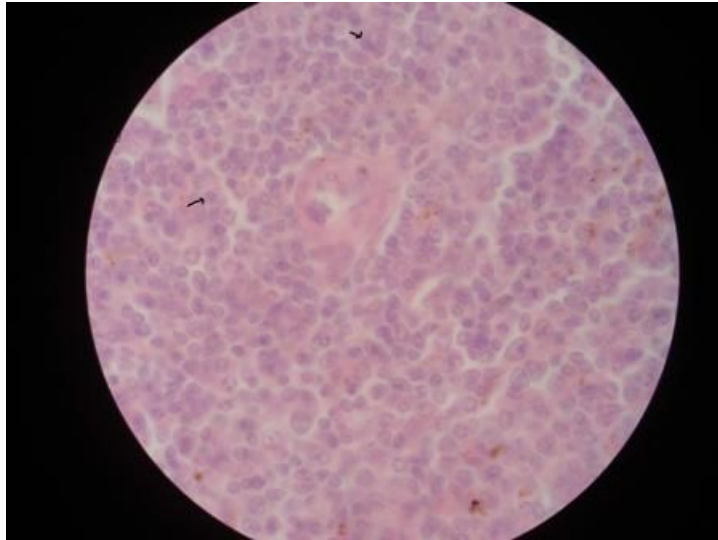
Gambar 4.1. Histogram Hitung Jumlah Limfosit di Lien pada Hari ke-3, ke-5 dan ke-7 Pada Kelompok Kontrol, Sepsis, dan Steroid pada Mencit Balb/C.



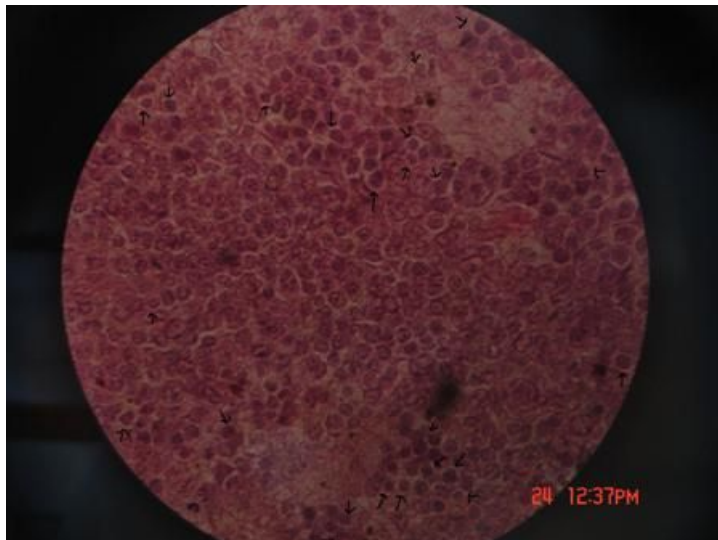
Gambar 4.2. Limfosit di Lien Kelompok Kontrol dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x



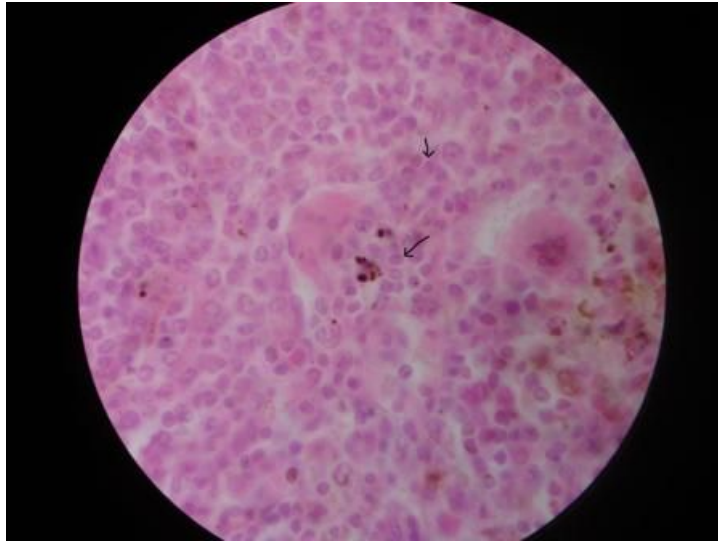
Gambar 4.3. Limfosit di Lien Kelompok NSt Hari ke-3 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x



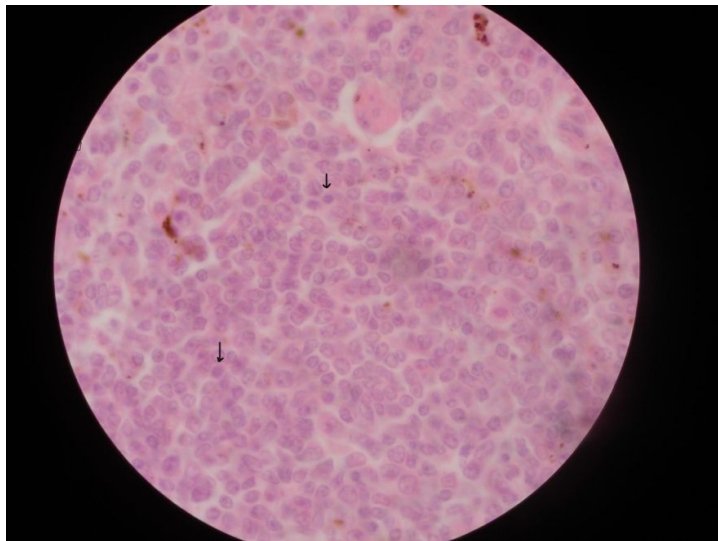
Gambar 4.4. Limfosit di Lien Kelompok St Hari ke-3 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x



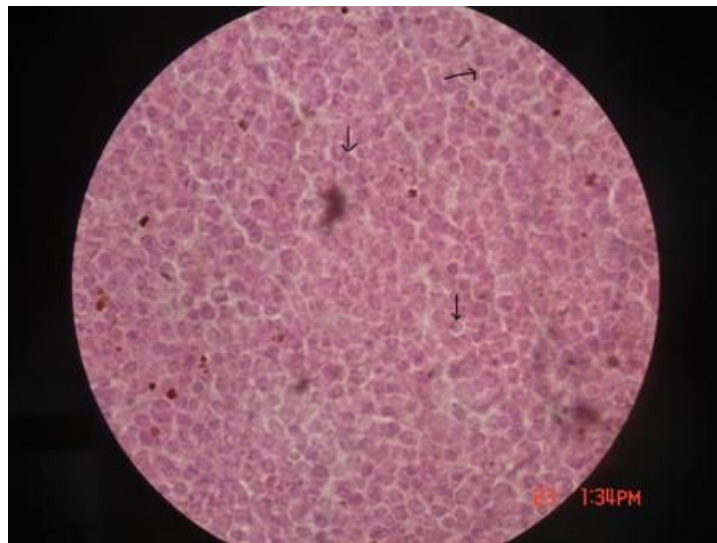
Gambar 4.5. Limfosit di Lien Kelompok NSt Hari ke-5 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x



Gambar 4.6. Limfosit di Lien Kelompok St Hari ke-5 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x



Gambar 4.7. Limfosit di Lien Kelompok NSt Hari ke-7 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x



Gambar 4.8. Limfosit di Lien Kelompok St Hari ke-7 dengan Pewarnaan Hematoksilin Eosin, Perbesaran 1000x

Pemberian kortikosteroid dosis rendah memperlihatkan jumlah limfosit di lien yang lebih banyak secara bermakna pada hari ke-3 ($p=0,003$) dan hari ke-5 ($p=0,042$), namun pada hari ke-7 jumlah limfosit di lien mengalami penurunan secara bermakna ($p=0,003$) dibanding kelompok sepsis tanpa pemberian steroid. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3. Tingkat Kemaknaan Antara kelompok berdasarkan lamanya sepsis

Hari ke-	Kelompok Perlakuan		<i>p value</i>
	LPS	Steroid	
3	5.0±1.1	9.5±2.6	.003
5	12.3±1.8	16.3±3.9	.042
7	13.2±3.3	7.3±1.8	.003

BAB V

PEMBAHASAN

Sepsis dibedakan menjadi dua fase, yaitu sepsis tahap awal (5 hari pertama) dan tahap kronik (setelah 5 hari pertama) (Xiao, 2006). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah limfosit di lien pada hari ke-3 setelah pemaparan LPS. Hal ini menunjukkan bahwa LPS mampu menginduksi mencit menjadi sepsis. Penurunan jumlah limfosit ini disebabkan karena adanya apoptosis limfosit di lien setelah pemaparan LPS, sesuai dengan pendapat dari Wesche-Soldato et al tahun 2007 yang mengatakan bahwa 12 jam setelah pemaparan akan terjadi apoptosis limfosit di lien. Namun demikian pada hari ke-5 dan ke-7 terjadi peningkatan jumlah limfosit di lien dibandingkan dengan kontrol. Hal ini mungkin terjadi karena pada fase kronik dari sepsis (setelah 5 hari paparan LPS) terjadi peningkatan jumlah limfosit sesuai dengan pendapat Xiao tahun 2006 yang mengatakan bahwa pada mencit yang mati pada fase kronik menunjukkan penurunan jumlah IL-6, berat badan dan peningkatan jumlah limfosit.

Kortikosteroid banyak digunakan dalam pengobatan inflamasi karena interaksinya dengan respon imun (Annane *et al.*, 2004). Shepherd *et al.*, (2005) menyatakan bahwa kortikosteroid dosis tinggi akan menekan sistem imun, sedangkan dosis rendah mampu meningkatkan sistem imun. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah limfosit di lien setelah pemberian kortikosteroid dosis

rendah bila dibandingkan dengan yang tidak diberi kortikosteroid dosis rendah pada hari ke-3 dan ke-5. Namun pada hari ke-7 terjadi penurunan jumlah limfosit pada kelompok yang telah diberi kortikosteroid dosis rendah. Pada keadaan *early* sepsis apoptosis yang terjadi masih minimal sehingga kortikosteroid dosis rendah mampu untuk menghambat proses apoptosis. Tetapi pada keadaan *late* sepsis proses apoptosis semakin meningkat dan proses sepsis menjadi lebih parah sehingga kortikosteroid dosis rendah tidak mampu untuk menekan proses apoptosis sehingga jumlah limfosit menjadi lebih rendah dibandingkan pada fase *early* sepsis.

Meskipun saat ini masih diperdebatkan penggunaan kortikosteroid dalam keadaan sepsis, dari hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kortikosteroid dosis rendah efektif untuk keadaan *early* sepsis karena mampu meningkatkan sistem imun, dalam penelitian ini terlihat peningkatan jumlah limfosit. Sedangkan pada keadaan *late* sepsis kortikosteroid dosis rendah kurang efektif, untuk itu diperlukan dosis kortikosteroid yang lebih tinggi.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Kortikosteroid dosis rendah meningkatkan jumlah limfosit di lien pada keadaan *early* sepsis pada mencit Balb/C model sepsis paparan LPS dan menurunkan jumlah limfosit pada keadaan *late* sepsis.

B. Saran

Dilakukan percobaan dengan kortikosteroid dosis rendah pada keadaan *early* dan *late* sepsis untuk mengetahui kinetik kortikosteroid dosis rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK and AH Lichtmann. 2005. Cellular and Molecular Immunology. 5th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders. Pp: 295-343.
- Arul MC, Markus HL, Chandan KS, Terrence RB, Sunita SS, Vidya JS, Vaishalee AP, and Peter AW. 2001. Molecular Signatures of Sepsis Multiorgan Gene Expression Profiles of Systemic Inflammation. *Am J Pathol.* 159(4): 1199-1209.
- Bhisma M. 2006. *Desain dan Ukuran Sampel untuk Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif di Bidang Kesehatan.* Yogyakarta : UGM Press, p: 83.
- Brooks G.F, Butel J, Morse A.S. 2003. *Medical Microbiology* Singapore: Mc Graw Hill Company, p: 217.
- Chang KC, Unsinger J, Davis CG, Schwulst SJ, Muenzer JT, Strasser A, Hotchkiss RS. 2007. Multiple Triggers of Cell Death in Sepsis: Death Receptor and Mitochondrial-Mediated Apoptosis. *FASEB J.* 21(3): 708-19.
- Cirioni O, Andrea G, Roberto G, Cristina B, Fiorenza O, Carmela S, Federico M, Alberto L, Barbara S, Marco R, Vittorio S, Margherita Z, Giorgio S. 2006. LL-37 Protects Rats Against Lethal Sepsis Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* May; 50(5): 1672–1679.
- Corral J, José Y, David HE, Yolanda M, Ruben M, Isabel A, Antonia M, Pascual P, and Vicente V. 2005. Role of Lipopolysaccharide and Cecal Ligation and Puncture on Blood Coagulation and Inflammation in Sensitive and Resistant Mice Models. *Am J Pathol.* 166(4): 1089–1098.
- Djillali A, Sebille C, Charpentier PE, Bollaert B. 2002. Effect of Treatment with Low Dose of Hydrocortisone and Fludrocortisone on Mortality in Patients with Septic Shock. *JAMA.* 288: 862-871.
- Djillali A and Caillon DM. 2003. Corticosteroid in Sepsis: from Bench to Bedside. *Shock.* 20: 197-207.
- Djillali A, Eric B, Pierre EB, Josef B, Didier K, and Yizhak K. 2004. Corticosteroids for Severe Sepsis and Septic Shock: a Systematic Review and Meta-Analysis. *BMJ.* 329(7464): 480.
- Djoko H. 2008. Management of Diabetic Foot Disease with Sepsis. *Proseding of National Symposium: The second Indonesia SEPSIS Forum.* Surakarta: PETRI. Pp: 74-81.

- Edwin SVA, Theo JCVB, Johan K. 2003. Receptors, Mediators, and Mechanisms Involved in Bacterial Sepsis and Septic Shock. *Clin Microbiol Rev.* 16(3): 379-414.
- Gartner LP and Hiatt JL. 2007. *Color Textbook of Hystology*. Philadelphia: Elsevier Saunder. Pp: 381-383
- Garrido AG, Luiz FPF, Mauricio RS. 2004. Experimetal Models of Sepsis and Septic Shock: an overview. *Acta Cirurgica Brasileira.* 19: 82.
- Gatot I. 2008. The Role of Cytokine in Pathobiology of Sepsis. *Proseding of National Symposium: The Second Indonesia SEPSIS Forum*. Surakarta:PETRI, pp: 114-117.
- Goodman S and Charles LS. 2002. The International Sepsis Forum's Controversies in Sepsis: Corticosteroids Should be used to Treat Septic Shock. *Crit Care.* 6(5): 381-383.
- Guntur H. 2008. SIRS, Sepsis, dan Syok Septik (Imunologi, Diagnosis, penatalaksanaan). Edisi I. Surakarta. UNS press,. P: 4
- Hotckiss RS and Irene EK. 2003. The Pathophysiologi and Treatment of Sepsis. 348: 138-150.
- Huiqing L, Wenrui X, Judith AS, Jun-Ming Z. 2007. Systemic Anti-Inflammatory Corticosteroid Reduces Mechanical Pain Behavior, Symphatetic Sprouting, and Elevation of Pro-Inflammatory Cytokines in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Anesthesiology.* 107(3): 469-477.
- Irene K. 2007. Pathogenesis of Sepsis and Multi Organ Dysfunction. <http://research.medicine.wustl.edu/OCFR/Research.nsf?OpenDatabase> (15 April 2008).
- Iskandar J. 2002. Manifestasi Neurologik Syok Sepsis. *USU Digital Library*.
- Kruzel ML, Harari Y, Chen CY, Castro GA. 2002. Lactoferrin Protects Gut Mucosal Integrity During Endotoxemia Induced by Lipopolysaccharide in Mice. *Inflammation.* 24(1): 33-44.
- Pudjiastuti. 2008. Immunoglobulin Intravena pada Anak dan Bayi dengan Sepsis. *Kumpulan makalah national symposium: the second Indonesia SEPSIS Forum*. Surakarta: March 7th-9th. P: 100.
- Purawisastra S. 2001. Penelitian Pengaruh Isolat Galaktomanan Kelapa terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Serum Kelinci.

http://digilib.ekologi.litbang.depkes.go.id/office.php?m=bookmark&id=jkpk_bppk-gdl-grey-2001-suryana-108-galaktomanan. (4 Desember 2008).

- Qin H, Cynthia AW, Sun JL, Xueyan Z, and Etty NB. 2005. LPS Induced CD40 Gene Expression Through the Activation of NF- κ B and STAT-1 α in Macrophages and Microglia. *Blood*. 106(9): 3114-3122.
- Remick DG. 2007. Pathophysiology of Sepsis. *American Journal of Pathology*. 170: 1435-1444.
- Rhen T and Cidlowski JA. 2005. Antiinflammatory Action of Glucocorticoids New Mechanisms for Old Drugs. *N Engl J Med*. 353: 1711-23.
- Wang X.L, Li Y, Kuang J.S, Zhao Y, Liu P. 2006. Increased Heat Shock Protein 70 Expression in the Pancreas of Rats with Endotoxic Shock. *World J Gastroenterol*; 12(5):780-783.
- Watson R. 2002. Anatomi dan Fisiologi untuk Perawat. 10th edition. Pp: 294-5.
- Wesche-Soldato DE., Ryan Z. Swan., Chun-Shiang Chung., and Alfred Ayala. 2007. The Apoptotic Pathway as a Therapeutic Target in Sepsis. *Curr Drug Targets*. 8(4): 493-500
- Xiao H, Javed S, and Daniel GR. 2006. Mechanisms of Mortality in Early and Late Sepsis. *Infect Immun*. 74(9): 5227–5235.