

Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum Dengan Pulasan Histokimia Acetylcholinesterase Untuk Mendiagnosis Penyakit Hirschsprung

Penelitian Karya Ilmiah Akhir

Untuk Memenuhi Persyaratan Dalam Menyelesaikan
Program Pendidikan Dokter Spesialis I
Ilmu Kesehatan Anak



Oleh:

Yeni Kusumawati, dr.

Pembimbing:

Prof. Dr. Subijanto Marto Sudarmo, dr., SpA(K)

Dr. IGM Reza Gunadi Ranuh, dr., SpA(K)

Dr. Alpha Fardah Athiyah, dr., SpA(K)

Andy Darma, dr., SpA

Ariandi Setiawan, dr., SpB., SpBA

Dr. Willy Sandhika, dr., SpPA(K), M.Si

Budiono, dr., M.Kes

**DEPARTEMEN/SMF ILMU KESEHATAN ANAK
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
RSUD Dr. SOETOMO
SURABAYA
2015**

KKA
KK
LP. 03/16
Kus
P

LEMBAR PENGESAHAN

(Penelitian Karya Ilmiah akhir)

**Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum Dengan Pulasan Histokimia
Acetylcholinesterase Untuk Mendiagnosis Penyakit
Hirschsprung**

Oleh :

Yeni Kusumawati, dr.

Disetujui untuk diterima setelah diuji oleh

Tim Penguji Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Tanggal 21 Oktober 2015

Ketua Program Studi
Departemen/SMF. Ilmu Kesehatan Anak
FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo



Dr. I Dewa Gede Ugrasena, dr., SpA(K)

Koordinator LITBANG
Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak
FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo

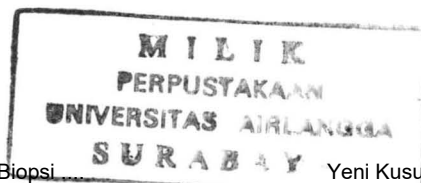


Mahrus A. Rahman, dr., SpA(K)

Ketua Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak
FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo



Sjamsul Arief, dr., SpA(K), MARS



LEMBAR KEPUTUSAN TIM PENGUJI

**Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum Dengan Pulasan Histokimia
Acetylcholinesterase Untuk Mendiagnosis Penyakit
Hirschsprung**

Oleh :

Yeni Kusumawati, dr.

Disetujui untuk diterima setelah dilakukan perbaikan sesuai keputusan tim Penguji

Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak

Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Tanggal 7 Oktober 2015

Pembimbing:

Prof. Dr. Subijanto Marto S., dr., SpA(K)

Dr. I.G.M. Reza Gunadi R, dr., SpA(K)

Dr. Alpha Fardah A, dr., SpA(K)

Andy Darma, dr., SpA

Ariandi Setiawan, dr., SpB., SpBA

Dr. Willy Sandhika, dr., SpPA(K), M.Si

Pembimbing Metodologi dan Statistik

Budiono, dr., M.Kes

Penguji

Ketua:

Dr. Anang Endaryanto, dr., SpA(K)

Anggota:

Prof. Dr. Ismoedijanto, dr., DTM&H., SpA(K)

Siti Nurul Hidayati, dr., SpA(K), M.Kes

I Ketut Alit Utamayasa, dr., SpA(K)


Mia Ratwita Andarsini, dr., SpA(K)

The image shows several handwritten signatures in black ink, each written over a horizontal dotted line. The signatures are arranged vertically on the right side of the page, corresponding to the names listed on the left. The signatures vary in style, with some being more cursive and others more blocky. The names 'Subijanto', 'Reza', 'Alpha', 'Andy', 'Ariandi', 'Willy', 'Budiono', 'Anang', 'Ismoedijanto', 'Siti Nurul', 'Ketut Alit', and 'Mia' are likely represented by these signatures.

LEMBAR PENGESAHAN BUKTI KEPEMILIKAN




Yang bertanda tangan dibawah ini


Yeni Kusumawati, dr

**Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum Dengan Pulasan Histokimia
Acetylcholinesterase Untuk Mendiagnosis Penyakit
Hirschsprung**

Adalah milik Divisi Gastroenterologi Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya

Ketua Divisi Gastroenterologi
Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak


Prof. Dr. Subijanto Marto S., dr., SpA(K)

Ketua Program Studi
Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak
FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo

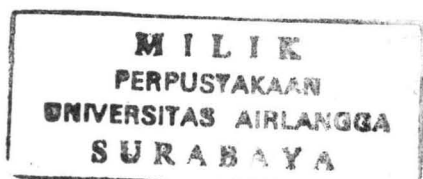


Dr. I Dewa Gede Ugrasena, dr., SpA(K)

Kepala
Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak
FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo



Sjamsul Arief, dr., SpA(K), MARS



Lembar Pernyataan

Dengan ini saya menyatakan bahwa laporan hasil penelitian karya ilmiah akhir dengan judul **“PEMERIKSAAN BIOPSI HISAP DENGAN PULASAN HISTOKIMIA ACETYLCHOLINESTERASE UNTUK MENDIAGNOSIS PENYAKIT HIRSCHSPRUNG”** beserta seluruh isinya adalah benar-benar karya saya sendiri, dan saya tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan dengan cara-cara yang tidak sesuai dengan etika yang berlaku dalam masyarakat keilmuan. Atas pernyataan ini, saya siap menanggung resiko/sangsi yang akan dijatuhkan pada saya apabila di kemudian hari ada pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam karya saya ini atau ada klaim dari pihak lain terhadap keaslian karya saya ini.

Surabaya, 28 Oktober 2015

Yang membuat pernyataan,



Yeni Kusumawati, dr.

KATA PENGANTAR

Penyakit Hirschsprung merupakan penyebab yang sering didapatkan pada bayi baru lahir dengan keluhan obstruksi dan terlambat keluarnya mekonium. Di tandai dengan tidak adanya ganglion sel dan adanya hipertrofi syaraf parasimpatis pada jaringan mukosa dan submukosa usus .

Biopsi hisap rektum merupakan alat diagnostik yang sangat penting untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Pemeriksaan ini aman untuk semua usia, tidak perlu persiapan khusus dan bisa digunakan pada pasien rawat jalan. Sampel dari biopsi ini kemudian diberikan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase*. Dasar pemeriksaan ini adalah untuk melihat peningkatan aktivitas enzim *Acethylcholinesterase* pada jaringan syaraf yang mengalami hipertofi pada pasien Hirschsprung. Di Indonesia laporan biopsi hisap rektum di lanjutkan dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* ini belum ada sehingga diperlukan penelitian biopsi hisap rektum dengan pulasan *Acetylcholinesterase* ini pada anak dengan keluhan Hirschsprung.

Meskipun dalam pelaksanaan penelitian karya ilmiah akhir ini penulis telah berupaya semaksimal mungkin, namun penulis menyadari bahwa makalah ini masih belum sempurna. Oleh karena itu setiap saran maupun kritik yang konstruktif demi perbaikan akan diterima dengan terbuka dan senang hati. Akhir kata, semoga penelitian karya ilmiah akhir ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

Penulis

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa karena hanya atas berkah dan rahmad-Nyalah, laporan penelitian saya yang berjudul “ **Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum dengan pulasan histokimia Acetylcholinesterase untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung**” dapat terselesaikan.

Penelitian tersebut dikerjakan untuk memenuhi persyaratan untuk menerima tanda keahlian sebagai Dokter Spesialis Anak di Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, Surabaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* dalam mendiagnosis penyakit Hirschsprung dibandingkan dengan *full-thickness biopsy*. Penelitian ini terlaksana karena banyak dukungan dari berbagai pihak.

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak yang telah membantu pelaksanaan penelitian mulai dari penyusunan proposal sampai penyusunan laporan penelitian :

1. **Seluruh pasien dan keluarganya** yang pernah saya rawat dan saya tangani selama menempuh pendidikan di **RSUD Dr. Soetomo Surabaya, RSUD Balung Jember, RS Pupuk Kaltim Bontang, RSUD Soe NTT, dan RSAL dr. Ramelan Surabaya** yang merupakan guru terbaik saya yang sejati dalam upaya mendapatkan ilmu dan keterampilan di bidang anak.
2. **Seluruh pasien dan keluarganya** yang telah bersedia menjadi **subyek penelitian** ini dengan bersedia dilakukan biopsi untuk penelitian saya.
3. **Prof. Dr Subijanto Marto Sudarmo dr., SpA(K), Dr.IGD Reza Gunadi Ranuh, dr., SPA(K), Dr Alpha Fardah Athiyyah dr, SpA(K), Andi Darma, dr.,SpA** selaku pembimbing penelitian dari Divisi Gastroenterologi, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, Surabaya.
4. **Ariandi Setiawan, dr.,SpB., SpBA dan Dr. Willy Sandhika, dr., SpPA(K), M.Si.** selaku pembimbing saya dari departemen bedah anak dan

Patologi Anatomi yang telah banyak membantu pada penelitian ini sehingga karya akhir saya dapat terwujud.

5. **Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes, SpPD-KGEH**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan **Prof. Dr. Muhammad Amin, dr., SpP(K)**, selaku mantan Dekan Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk menempuh Pendidikan Dokter Spesialis Ilmu Kesehatan Anak.
6. **Dodo Anondo, dr., MPH**, selaku Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya dan **H. Slamet Riyadi Yuwono, dr., DTM&H, MARS**, selaku mantan Direktur RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama masa pendidikan keahlian saya serta memberikan kemudahan dalam melakukan penelitian.
7. **Prof. Dr. Triyono, dr., SpR(K)**, selaku Ketua Tim Koordinasi Pelaksana, Program Pendidikan Dokter Spesialis, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama masa pendidikan keahlian saya.
8. **H. Sjamsul Arief, dr., MARS, SpA(K)**, selaku Ketua Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, dan **Prof. Dr. Subijanto Marto Sudarmo, dr., SpA(K)**, selaku mantan Ketua Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, yang telah berkenan memberikan kesempatan kepada saya untuk memperdalam pengetahuan di bidang Ilmu Kesehatan Anak, serta atas bimbingan dan pengarahannya selama saya mengikuti pendidikan keahlian.
9. **Dr. I Dewa Gede Ugrasena, dr., SpA(K)**, selaku Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, dan **Hj. Siti Nurul Hidayati, dr., M.Kes, SpA(K)** selaku Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, serta **Prof. M. Sjaifullah Nocr, dr., SpA(K)** selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas

Airlangga / RSUD Dr. Soetomo dan **Muhammad Faizi, dr., SpA(K)**, selaku mantan Sekretaris Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo, atas segala bimbingan yang amat berharga yang senantiasa diberikan kepada saya selama mengikuti pendidikan keahlian.

10. **H. Mahrus A. Rachman, dr., SpA(K)**, selaku Koordinator Litbang Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo dan **Prof. Dr. Teddy Ontoseno, dr., SpJP, SpA(K), FIHA.**, selaku mantan Koordiantor Litbang, Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo yang bersedia mendukung konsep penelitian ini sehingga karya akhir saya dapat terwujud, serta saran dan kritik yang menggugah saya untuk terus membaca.
11. **Budiono, dr., MKes**, selaku pembimbing statistik yang telah membantu dalam hal penyusunan metode penelitian dan pengolahan data.
12. **Prof. Dr. Ismoedijanto, dr., SpA(K), DTM&H., Dr Anang Endaryanto, dr., SpA(K), Siti Nurul Hidayati dr. SpA(K), M.Kes, I Ketut Alit Utamayasa dr, SpA(K), Mia Ratwita Andarsini dr, SpA(K)** selaku tim penguji atas asupan konstruktif yang berharga untuk perbaikan karya ilmiah penelitian ini.
13. **Seluruh staf pengajar di Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RUSD Dr. Soetomo, Surabaya** yang telah membimbing dan membantu dalam menyelesaikan studi di bagian Ilmu Kesehatan Anak sekaligus memberikan ilmu baru yang sangat bermanfaat.
14. **Seluruh staf pengajar Mata Kuliah Dasar Umum (MKDU), Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga** yang telah memberi bekal untuk menempuh pendidikan di Program Studi Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
15. **Seluruh rekan sejawat PPDS-1 Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo Surabaya** yang telah bersama-sama dalam suka dan duka menempuh pendidikan spesialis anak.

16. Rekan PPDS-1 Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo periode Januari 2011, yaitu **Wahyu Wibowo, dr., Djuhdi Husnudin, dr., Ahmad Mahfur, dr., Mohamad Thoufik Hidayat, dr., Mohammad Kahfi, dr., Adrianus Harry Saputra, dr., Areta Idarto, dr., Nurul Yudhi P, dr., Laily Mufidah, dr.**, atas kekompakan dan kerjasamanya selama menempuh pendidikan dokter.
17. **Andi Cahyadi, dr., SpA., Desi Primayani, dr., dan Yuli dr.**, selaku Sie Ilmiah PPDS yang telah meluangkan waktu lebih demi kemajuan masyarakat ilmiah PPDS-1 Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga / RSUD Dr. Soetomo.
18. Teman-teman yang akan bersama mengikuti ujian board di Jakarta bulan November 2015 yaitu **Hidayati Utami Dewi, dr., Deanty Ayu PA, dr., Nazara Agustina, dr., Putu Dian Saraswati, dr., Jean Peter S, dr.**, semoga kita bisa lulus mendapat hasil terbaik dan tidak mengecewakan seluruh pihak.
19. **Ahmad Mahfur** beserta **pengurus PPDS** atas bantuannya selama ini.
20. **Seluruh paramedis** di Instalasi Rawat Jalan Anak dan Instalasi Rawat Inap Anak, RSUD Dr. Soetomo, Surabaya yang telah membantu saya selama masa pendidikan.
21. **Mbak Timur, Mbak Didi, Mbak Nita, Bu Win, Mbak Dian, Mbak Yuni dan Mbak Indri** terima kasih atas bantuannya mengurus PPDS selama ini.
22. **Semua pihak** yang telah membantu saya sampai lulus pendidikan dokter spesialis anak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Dan sungguh bersyukur saya memiliki keluarga yang luar biasa, yang senantiasa mendukung dan memberi kesempatan kepada saya untuk mewujudkan apa yang saya inginkan, saya sampaikan rasa hormat dan kasih sayang kepada:

1. Suami dan anak anak saya tersayang, **Kompol Agung Darmono SH , Balqis Aliya Rafina dan Malika Nadia Rafina**, atas kesabaran dan ketabahan mendampingi selama saya menempuh pendidikan serta doa yang selalu dipanjatkan demi keselamatan dan keberhasilan saya. Maafkan saya karena sering meninggalkan kewajiban sebagai istri dan ibu untuk beberapa waktu dalam menunaikan tugas-tugas sebagai PPDS.

2. Kedua orang tua saya tercinta **H. Drs Yadji Iswoto.** dan **Hj. Sutari S.Pd** atas dukungan moral, dukungan material dan doa yang selalu dipanjatkan untuk saya agar saya dapat mencapai cita-cita menjadi dokter spesialis anak.
3. Kedua almarhum mertua saya, **Sarminto** dan **Subandiyah** yang semasa hidupnya telah memberikan atas dukungan material dan spiritual sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan saya.
4. Kakak, kakak ipar adik ipar saya, **drh Iin Yosephin dan keluarga, Retno Wilis Puji astuti., SPd dan keluarga, Agung Suryanto dan keluarga, Retno Wilis Sri Suryandari ., SE dan keluarga.** atas dukungan dan doanya.
5. **Seluruh keluarga besar saya** yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu atas bantuannya selama ini.

Semoga penelitian ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya. Peneliti juga berharap semoga hasil yang didapat dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu kedokteran dan pada akhirnya bermanfaat bagi kesehatan anak-anak Indonesia. Semoga Tuhan Yang Maha Esa senantiasa melimpahkan berkah dan rahmat-Nya kepada kita semua.

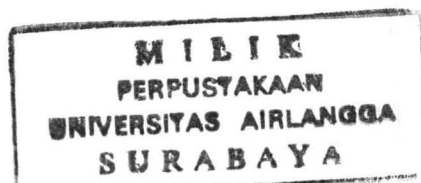
Peneliti

RINGKASAN

Penyakit Hirschsprung sering didapatkan pada bayi baru lahir dengan keluhan obstruksi dan terlambat keluarnya mekonium. Diagnosis definitif penyakit ini adalah tidak ditemukannya ganglion pada biopsi rektal dan adanya hipertrofi serabut syaraf kolinergik pada sistem syaraf parasimpatis di dinding usus. Biopsi hisap rektum saat ini merupakan alat diagnostik yang sangat penting yang digunakan secara rutin di negara lain untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Pada pemeriksaan ini pengambilan sampel hanya mencakup mukosa dan sedikit jaringan submukosa, selain itu aman untuk semua usia, dapat dilakukan dengan tanpa persiapan khusus. Pada pulasan histokimia Acetylcholinesterase yang dilihat adalah aktifitas enzim AChE yang pada penyakit ini aktifitasnya meningkat. Belum ada publikasi tentang hal tersebut di Indonesia.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia Acetylcholinesterase dalam mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Subyek penelitian ini adalah pasien yang dicurigai dengan penyakit Hirschsprung, jumlah sampel adalah total pasien yang datang pada bulan april sampai bulan Agustus 2015. Biopsi hisap rektum menggunakan alat SBT-100 mengambil 3 tempat, dan dibandingkan dengan fullthickness biopsi yang mengambil 3 tempat juga selanjutnya kedua bahan biopsi tersebut dilakukan pulasan Acetylcholinesterase.

Dari hasil statistik, secara keseluruhan biopsi hisap rektum dibandingkan dengan *full-thickness biopsy* tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* bisa digunakan sebagai alat diagnostik untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung

Abstrak

Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum Dengan Pulasan Histokimia Acetylcholinesterase Untuk Mendiagnosis Penyakit Hirschsprung

Yeni Kusumawat, Subijanto Marto Sudarmo, IGM Reza Gunadi Ranuh, Alpha Fardah Athiyyah, Andy Darma, Ariandi Setiawan, Willy Sandhika, Budiono.

Latar Belakang: Biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia Acetylcholinesterase merupakan alat diagnostik yang sangat penting untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Saat ini di penegakan diagnosa penyakit Hirschsprung di RS dr Soetomo menggunakan biopsi rektal dengan pulasan Hematoxilin&Eosin. Pemeriksaan dengan menggunakan pulasan H&E ini memiliki banyak kekurangan diantaranya sulit mendeteksi sel ganglion yang *imature* dan distribusi yang tidak merata, sehingga identifikasinya sulit. Belum ada publikasi tentang pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan Acetylcholinesterase di Indonesia.

Tujuan: Untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia Acetylcholinesterase dalam mendiagnosis penyakit Hirschsprung

Metode: Cros sectional study dilakukan di RSUD Dr Soetomo pada bulan April-Agustus 2015 pada anak usia 14 hari sampai 6 tahun 11 bulan dengan kecurigaan penyakit Hirschsprung. Biopsi hisap rektum dilakukan simultan dengan *full-thickness biopsy* kemudian dilakukan pulasan dengan Acetylcholinesterase. Hasil dikatakan positif penyakit Hirschsprung jika didapatkan kenaikan aktifitas Acetylcholinesterase.

Hasil: Terdapat 10 sampel pasien yang dicurigai dengan Hirschsprung, 6 diantaranya positif dan 2 negatif. Satu negatif palsu ditemukan karena masalah tehnik dan satu positif palsu ditemukan pada neonatus usia 14 hari. Biopsi hisap rektum dengan pulasan Acetylcholinesterase ini memiliki angka sensitifitas 85,7% dan sensitifitas 66,7%

Kesimpulan: Biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* bisa digunakan sebagai alat diagnostik untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung

Kata Kunci: *Acetylcholinesterase, Biopsi hisap rektum, Penyakit Hirschsprung,*



Rectal suction biopsy with Acetylcholinesterase Histochemical for diagnostic of Hirschsprung disease

Yeni Kusumawati, Subijanto Marto Sudarmo, IGM Reza Gunadi Ranuh, Alpha Fardah Athiyyah, Andy Darma, Ariandi Setiawan, Willy Sandhika, Budiono.

Background: Rectal suction biopsy with Acetylcholinesterase histochemical staining is very important diagnostic tool to diagnose Hirschsprung's disease. Currently in the diagnostic enforcement of Hirschsprung disease in Soetomo hospital is using rectal biopsy with Hematoxilin and eosin staining. Hematoxilin and Eosin staining has many shortcomings including difficulty in identification of the immature ganglion cells and uneven distribution. There has been no publication of rectal suction biopsy with Acetylcholinesterase staining in Indonesia.

Objective: To determine the diagnostic value of rectal suction biopsy with Acetylcholinesterase histochemical staining in diagnosing of Hirschsprung's disease

Methods: Cros-sectional study was conducted at the Dr Soetomo hospital in April to Agustus 2015 with 14 day old to 7 year old children suspicion of Hirschsprung's disease. Rectal suction biopsy was done simultaneously with full-thickness biopsy, both of this methods use Acetylcholinesterase staining. The histochemical criteria of Hirschsprung's disease was Acetylcholinesterase increasing in mucosa and submucosa of colon which marked by the presence of many cholinergic fibers.

Results: There were 10 samples of suspected patients with Hirschsprung's disease, 6 samples were positive and 2 samples were negative. One sample was false negative due to technical problems and one sample in 14 days old was false positive. Rectal suction biopsy with Acetylcholinesterase staining have a sensitivity figure of 85.7% and spesitivity of 66.7%

Conclusions: Rectal suction biopsy with Acetylcholinesterase histochemical staining can be used as a diagnostic tool in diagnosing of Hirschsprung's disease

Keywords: Acetylcholinesterase, Rectal suction biopsy, Hirschsprung's disease,





DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR KEPUTUSAN TIM PENGUJI.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN BUKTI KEPEMILIKAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
RINGKASAN.....	viii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan masalah.....	2
1.3 Tujuan penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Teori.....	4

1.4.2 Manfaat praktis.....	4
BAB 2. TINJAUAN KEPUSTAKAAN.....	5
2.1 Penyakit Hirschsprung.....	6
2.1.1 Epidemiologi.....	6
2.1.2 ENS.....	8
2.1.2.1 Dinding usus.....	11
2.1.2.2 Persyarafan pada kolon.....	14
2.1.2.3 Motilitasusus.....	17
2.2 Diagnosa penyakit Hirschsprung.....	10
2.2.1 Gejala Klinis.....	19
2.2.2 Pemeriksaan Radiologis.....	21
2.2.3 Diagnosa Fungsional.....	26
2.2.4 Biopsi Rektum.....	29
2.2.4.1 <i>Fullthickness biopsy</i>	29
2.2.4.2 Biopsi hisap rektum.....	32
2.4 Acetylcholinesterase pada penyakit Hirschsprung.....	37
2.2 Kerangka Teori.....	43
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS.....	44
3.1 Kerangka Konseptual.....	44
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	47
4.1 Desain Penelitian.....	47
4.2 Tempat dan waktu Penelitian.....	47
4.3 Populasi dan Sampel.....	47
4.3 Populasi sampel.....	47
4.3. Sampel Penelitian.....	48

4.4 Besar Sampel.....	49
4.4. Kriteria Sampel	48
4.4.1 Kriteria inklusi.....	48
4.4.2 Kriteria Ekslusi.....	48
4.4.3 Kriteria Putus Uji.....	48
4.5 Variabel Penelitian.....	49
4.5.1 Variabel Bebas.....	49
4.5.2 Variabel tergantung.....	49
4.6 Definisi Operasional.....	49
4.7 Cara Kerja.....	51
4.8 Alur Penelitian.....	53
4.9 Pengumpulan dan Penyajian Data.....	54
4.9.1 Pengumpulan data.....	54
4.9.2 Penyajian Data.....	54
4.10 Analisa Statistik.....	54
BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	55
5.1 Karakteristik subyek pasien.....	55
5.2 Gambaran Klinis Subyek pasien.....	56
5.3 Gambaran Histokimia Acetylcholinesterase.....	57
BAB 6 PEMBAHASAN.....	63
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	74

DAFTAR PUSTAKA.....	75
LAMPIRAN.....	82

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Bahan bahan reagen Acetylcholinesterase.....	41.
Tabel 5.1 Karakteristik sampel penelitian.....	57
Tabel 5.3 Crosstabulasi tempat pengambilan biopsi hisap rektum dengan hasil pemeriksaan histokimia Acetylcholinesterase.....	59
Tabel 5.4 Crosstabulasi <i>Fullthickness biopsy</i> dengan hasil pemeriksaan histokimia Acetylcholinesterase.....	60
Tabel 5.5 Hasil pemeriksaan <i>Acetylcholinesterase</i> pada biopsi hisap rektum dan <i>full-thickness biopsy</i>	60
Tabel 5.6: Tabel 2x2 hasil pulasan histokimia <i>Acetylcholinesterase</i> antara biopsi hisap rektum dengan <i>fullthickness biopsy</i>	61
Tabel 5.7 akurasi diagnostik biopsi hisap rektum dengan pulasan hisetokimia <i>Acetylcholinesterase</i>	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan Penelitian.....	82
Lampiran 2. Informasi dan persetujuan subyek penelitian.....	83
Lampiran 3. Lembar Pengumpulan Data Penelitian.....	88
Lampiran 4. Keterangan Kelaikan Etik.....	90

DAFTAR SINGKATAN

ACh	: Acetylcholin
AChE	: Acetylcholinesterase
ARM	: Anorektal Manometri
CE	: Contras Enema
CETZ	: Contras enema transition zone
ENS	: Enterik Nervous system
H&E	: Hematoxilin-Eosin
NCCs	: Neural Crest Sel
CNS	: Central Nervous System
IPAN	: Intrinsic Primary Afferent Neurons
IND	: Intestinal Neuronal Dysplasia
Iso-OMPA	: Iso Propylpyrophosphamide.
LDH	: Lactic Dehydrokinase
MMC	: Migrating Myoelektric complex
NO	: Nitric Oxide
PARTZ	: Abdominal radiograph transition zone
RAIR	: Recto Anal Inhibitory Reflex
5 MC	: 5-hydroxytryptamine



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diagnosis definitif penyakit Hirschsprung adalah tidak ditemukannya ganglion pada biopsi rektum dan adanya *hipertrofi* serabut syaraf kolinergik pada sistem syaraf parasimpatis di dinding usus (O`Donovan, 1996; Ghosh, 1998; Haricharan, 2008). *Full-thickness biopsy* memberikan bahan dimana kedua muskularis mukosa dan muskularis *propria* terlihat, tetapi prosedur ini invasif dan pasien harus dilakukan pemberian anaestesi terlebih dahulu, selain itu prosedur ini juga bisa menimbulkan laserasi dan perdarahan pada dinding usus (Haricharan, 2008; Orno, 2014). Di rumah sakit Dr Soetomo untuk menegakkan diagnosis penyakit Hirschsprung digunakan cara yang konvensional yaitu menemukan ganglion dengan pemeriksaan Hematoxilin-Eosin (H&E). Pemeriksaan dengan menggunakan pulasan H&E ini memiliki banyak kekurangan diantaranya sulit mendeteksi sel ganglion yang *imature* (maturasi sel ganglion ini belum lengkap pada saat bayi lahir terutama pada ganglion di daerah submukosa). Ganglion yang *imatur* ini mirip dengan sel *stromal* sehingga kemungkinan besar bisa salah interpretasi, selain itu *ganglion* submukosa lebih kecil dibandingkan *ganglion* pada *plexus myenterikus* dengan distribusi yang tidak merata, sehingga identifikasinya sulit (Memarzadeh, 2009).

Biopsi hisap rektum saat ini merupakan alat diagnostik yang sangat penting yang digunakan secara rutin di negara lain untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Pada pemeriksaan ini pengambilan sampel hanya mencakup mukosa dan sedikit jaringan submukosa. Pemeriksaan ini aman untuk semua usia, dapat dilakukan dengan tanpa persiapan khusus dan tidak memerlukan sedasi serta bisa digunakan pada pasien rawat jalan. Sampel dari biopsi rektum ini, baik *full-thickness biopsy* maupun biopsi hisap rektum, diberikan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase*. Dasar pemeriksaan ini adalah untuk melihat peningkatan aktivitas enzim *Acetylcholinesterase*. Pada pasien dengan penyakit Hirschsprung, hipertrofi serabut syaraf parasimpatis ditemukan sampai ke lapisan mukosa usus, sehingga bisa terwarnai dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* (Andrassy, 1980; Kurer, 1986).

Penyakit Hirschsprung ini sering didapatkan pada bayi baru lahir dengan keluhan obstruksi dan terlambat keluarnya mekonium. Insiden penyakit Hirschsprung bervariasi, pada tahun 1985 di British Columbia 1 per 4.417 kelahiran (Spouge, 1985). Di Denmark pada tahun 1994 di dapatkan angka 1 per 7.165 (Russel, 1994), sedangkan di Jepang pada tahun 2005 insiden bayi dengan penyakit Hirschsprung sebesar 1 per 5.349 (Suita., 2005). Adanya tendensi faktor keturunan juga banyak di laporkan pada penyakit ini (Amiel., 2008; Florino K., 2011; Baddner., 1994). Di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya dalam waktu 4 tahun (tahun 2010-2013) terdapat 338 pasien yang diduga dengan penyakit ini, tetapi

hanya 98 pasien saja yang sampai dilakukan pembedahan (data tidak di publikasikan). Tindakan pembedahan yang dilakukan tanpa pemeriksaan diagnostik yang tepat sebelumnya dikhawatirkan akan banyak memberikan kerugian kepada pasien, banyak komplikasi yang terjadi setelah pembedahan diantaranya adalah peningkatan frekuensi buang air besar, *stenosis* pada anus, konstipasi, ekskorsiasi pada perianal bahkan sampai ke enterokolitis (Schleef, 2013).

Akurasi dari pemeriksaan biopsi hisap rektal pada pasien dengan penyakit Hirschsprung sangat bervariasi. Penelitian yang dilakukan Kurer (1986) pada 22 anak dengan menggunakan *Acetylcholinesterase* didapatkan sensitifitas 100% dan spesifisitas 100%. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Andrassy (1980) dari 302 sampel yang lakukan pemeriksaan akurasi biopsi hisap rektal sebesar 100% tidak ada positif palsu maupun negatif palsu dan 69 dari seluruh sampel menunjukkan gambaran penyakit Hirschsprung. Sedangkan Orno Ax (2014) melakukan penelitian pada 20 pasien di Swedia hasilnya sensitifitas biopsi hisap rektum sebesar 93% dan spesifisitasnya sebesar 100%. Di Indonesia pemeriksaan definitif dengan *full-thickness biopsy* yang dilanjutkan dengan pulasan *Acetylcholinesterase* dan pemeriksaan biopsi hisap rektum yang dilanjutkan dengan pulasan *Acetylcholinesterase* belum dilakukan. Oieh karena itu, perlu diketahui nilai diagnostik dari biopsi hisap rektum dengan pulasan *Acetylcholinesterase*, mengingat belum ada publikasi tentang hal tersebut di Indonesia.

Berdasarkan fakta tersebut, maka kami akan meneliti pemeriksaan biopsi hisap rektum yang dilanjutkan dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* dalam mendiagnosis penyakit Hirschsprung dibandingkan baku emas *full-thickness biopsy* dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* pada bayi dan anak-anak yang mempunyai gejala klinis penyakit Hirschsprung.

1.2 Rumusan masalah

Bagaimana pemeriksaan histokimia *Acetylcholinesterase* pada biopsi hisap rektum sebagai alat penegakan diagnosis pada pasien dengan kecurigaan penyakit Hirschsprung?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui nilai diagnostik pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* dalam mendiagnosis penyakit Hirschsprung dibandingkan dengan *full-thickness biopsy*.

1.3.2 Tujuan khusus

Menentukan nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif dan rasio kemungkinan dari pemeriksaan biopsi hisap

rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* pada penyakit Hirschsprung.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teori

Memperoleh bukti bahwa pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* sebagai alat diagnosis penyakit Hirschsprung.

1.4.2 Manfaat Praktis

Mempermudah tata laksana penyakit Hirschsprung, khususnya dalam penegakan diagnosis.

BAB 2**TINJAUAN KEPUSTAKAAN****2.1 Penyakit Hirschsprung****2.1.1 Epidemiologi**

Penyakit Hirschsprung didefinisikan sebagai suatu penyakit yang ditandai dengan tidak adanya ganglion sel pada pleksus *myentericus* dan submukosa usus bagian bawah mulai dari spingter interna sampai ke proksimal, dengan panjang bervariasi (Swenson, 2002; Kessmann, 2006; Mandhan, 2010). Pasien dengan penyakit Hirschsprung pertama kali dilaporkan oleh Frederick Ruysch pada tahun 1691, tetapi yang baru mempublikasikan adalah Harald Hirschsprung yang mendeskripsikan megakolon kongenital pada tahun 1886. Namun patofisiologi terjadinya penyakit ini tidak diketahui secara jelas hingga akhir tahun 1940-an, dimana Robertson dan Kernohan menyatakan bahwa megakolon yang dijumpai pada kelainan ini disebabkan obstruksi dikarenakan gangguan peristaltik dibagian distal usus akibat tidak adanya ganglion (Carpenter, 1967; Ishfaq, 2014).

Penyakit ini terjadi kira kira 1 per 4400 kelahiran sampai 1 per 7000 kelahiran (Daniel, 1998). Insiden penyakit Hirschsprung bervariasi, pada tahun 1985 di British Columbia 1 per 4.417 kelahiran (Spouge, 1985). Di Denmark pada tahun 1994 di dapatkan angka 1 per 7.165 kelahiran (Russel, 1994). Sedangkan di Jepang pada tahun 2005 insiden bayi dengan penyakit Hirschsprung sebesar 1 per 5.349 kelahiran hidup (Suita, 2005), di Scotlandia



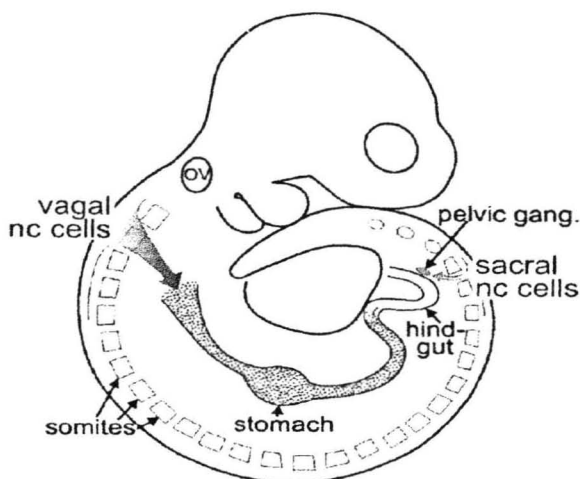
dilaporkan insiden penyakit Hirschsprung ini adalah 1 per 4500 kelahiran hidup (Orr, 1983), sedangkan di Rumah Sakit Dr. Soetomo Surabaya dalam waktu 4 tahun(2010-2013) terdapat 338 pasien dirawat dengan dugaan penyakit Hirschsprung, tetapi hanya 98 pasien saja yang sampai dilakukan pembedahan (data tidak di publikasikan).

Penyakit Hirschsprung ini dilaporkan lebih banyak mengenai laki-laki di bandingkan perempuan. Izadi dan kawan kawan melaporkan dalam 6 tahun penelitiannya didapatkan 58 pasien dengan penyakit Hirschsprung yang didominasi oleh laki laki 67% dan wanita 33% dan sebagian besar 69% di dapatkan pada usia 1-6 tahun (Izadi, 1998), sedangkan di Tanzania di laporkan pada 5 tahun penelitiannya Mabula mendapatkan 116 kasus penyakit Hirschsprung yang didominasi oleh laki laki dengan perbandingan 3,6:1 dengan rata rata usia 24 bulan (Mabula, 2014). Sementara itu di Barbados dalam 16 tahun penelitiannya Vincent melaporkan terdapat 27 kasus dengan Hirschsprung dengan rasio laki laki dibandingkan dengan perempuan sebesar 3:1 dan dengan usia merupakan kelompok yang paling besar 37% (Vincent, 2009). Rahman dan kawan kawan melaporkan dalam 4 tahun jumlah pasien yang datang dengan diagnosis Hirschsprung sebanyak 116 kasus dengan laki laki sebesar 143 dan perempuan 73 1,9:1 dengan kelompok usia paling besar 90.7% adalah kelompok usia 1 tahun (Rahman, 2010), di Negeria seperti yang dilaporkan oleh Chirdan pada 8 tahun di dapatkan kasus sebanyak 78 dimana usia yang paling banyak adalah usia kurang dari 30 hari 39.7 % sedangkan perbandingan laki laki di bandingkan perempuan sebesar 2.8: 1(Chirdan, 2006).

Temuan ini mirip dengan yang dilaporkan oleh Fouzia di Kuwait dimana dalam 10 tahun dilaporkan ada 102 kasus yang didominasi oleh kelompok usia kurang dari 1 bulan 57% sedangkan perbandingan antara laki laki dan perempuan adalah 5,8 :1(Fouzia, 2006).

2.1.2 Enterik Nervous Sistem (ENS)

Enterik Nervous Sistem (ENS) adalah bagian dari sistem syaraf autonom yang paling besar dan paling kompleks, terbentuk dari *neural crest sel* (NCCs) yang merupakan *pluripotent stem sel*. *Neural crest sel* akan berdiferensiasi menjadi *Central Nervous System* dan *Peripheral Nervous Sistem* (sistem syaraf autonom dan somatik). ENS itu sendiri merupakan bagian terbesar dari sistem syaraf perifer dan berfungsi secara terpisah dari sistem syaraf pusat dan mengontrol langsung sistem pencernaan. ENS ini merupakan sebagian dari NCSC ini terbentuk dari daerah vagal pada *hind brain* terutama dari somites 1-7 yang akan memberikan sebagian besar neuron parasimpatik dan sel glial pada ENS. Sel prekursor ini bermigrasi dari daerah vagal ke foregut secara craniocaudal pada minggu ke 4, dan membentuk seluruh saluran pencernaan pada minggu ke 7 (Burns, 2009; Zhang, 2010; Tjaden, 2013).



Gambar 1. Kolonisasi neural crest pada pembentukan saluran cerna embrio

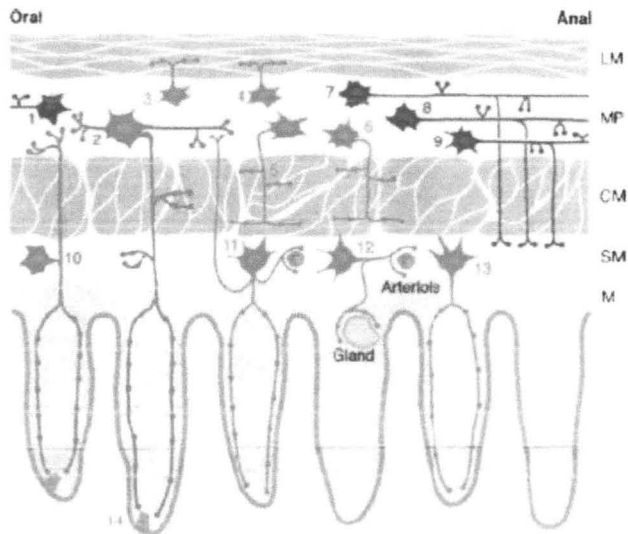
Sumber: Gershon D Michael dan Ratcliffe M Elyanne. *Developmental biology of the enteric nervous system: Pathogenesis of Hirschsprung's disease and other congenital dysmotilities*. Seminar in Pediatric surgery 2004;13: 224-235

Aktifitas motorik dari saluran gastrointestinal utamanya ditimbulkan oleh ENS ini. ENS merupakan suatu sistem yang sangat kompleks, tersusun atas neuron dan sel sel yang terdapat pada dinding saluran pencernaan. Sistem ini mengatur motilitas usus, perubahan aliran darah dan pengaturan air dan elektrolit. ENS sendiri terdiri dari berjuta juta neuron, neuron-neuron ini akan membentuk ganglion. Waktu dan harmonisasi dari faktor faktor transkripsi, faktor pertumbuhan, reseptor dan pemberian sinyal sangat penting pada setiap tahap pembentukan ENS, adanya defek pada proses proses ini (migrasi ENCCs, proliferasi, diferensiasi) dan survival dari progenitor ENS dalam jalurnya menuju usus bagian distal akan membentuk kelainan penyakit Hirschsprung. Seperti yang telah disebutkan bahwa ENS terbentuk berjuta juta neuron dan sel sel glia, sel sel ini saling berhubungan di dalam plexus. Pada ENS terdapat 2 plexus ganglia yaitu plexus *myentericus* dan plexus submukosal, plexus *myentericus* Auerbach terletak antara otot polos

longitudinal dan *sircular* yang tersusun mulai dari esofagus sampai ke anus. Sedangkan pleksus pada submukosa terbagi menjadi 2 yaitu pleksus yang letaknya di bagian dalam yaitu pleksus Meissner dan pleksus Scabadasch di bagian luar yang berdekatan atau berbatasan dengan otot *sircular*. Pleksus submukosa ini hanya ada pada usus dan tidak terdapat pada esofagus. Pleksus *myentericus* berfungsi untuk mengatur fungsi motorik sedangkan pleksus submucosa berfungsi mengatur sistem darah, sekresi dan penyerapan. Meskipun neuron neuron pada ENS ini membentuk suatu ganglion tetapi secara morfologis bentuknya tidak sama seperti ganglion di tempat lain (Jonathan, 2013; Puri, 2008).

Kedua pleksus ini terintegrasi dan berperan dalam seluruh aspek fungsi usus, termasuk absorpsi, sekresi, motilitas, dan aliran darah. Motilitas yang normal utamanya dikendalikan oleh neuron intrinsik. Ganglia ini mengendalikan kontraksi dan relaksasi otot polos, gerakan relaksasi mendominasi. Fungsi usus sebenarnya telah optimal tanpa innervasi ekstrinsik. Kendali ekstrinsik utamanya melalui serat kolinergik dan adrenergik. Serat kolinergik ini menyebabkan kontraksi usus, dan serat adrenergik menyebabkan penghambatan. Pada pasien dengan penyakit Hirschsprung, sel ganglion tidak ditemukan sehingga kontrol intrinsik menurun, menyebabkan peningkatan kontrol persarafan ekstrinsik. Innervasi dari sistem kolinergik dan adrenergik meningkat 2-3 kali dibandingkan innervasi normal. Sistem adrenergik diduga mendominasi sistem kolinergik, mengakibatkan peningkatan tonus otot polos usus. Dengan hilangnya kendali saraf intrinsik, peningkatan tonus tidak

diimbangi dan mengakibatkan ketidakseimbangan kontraktilitas otot polos, peristaltik yang tidak terkoordinasi, dan pada akhirnya terjadi obstruksi fungsional (Howard, 1970; Puri, 2008).



Gambar 2. Berbagai macam tipe neuron pada usus halus.

Sumber: Puri P, Montedenico S. *Hirschsprung's disease and Allied disorders*. 3 ed. New York: Springer, 2008

2.1.2.1 Dinding usus

Saluran pencernaan adalah sistem organ yang terbentuk dari endoderm yang dimulai dari mulut sampai anus. Saluran pencernaan pada bayi dibagi menjadi 3 bagian berdasarkan aliran darah, *foregut* mendapatkan aliran darah dari arteri *celiac* yang terdiri dari esofagus, lambung, bagian dari duodenum dan kandung empedu. *Midgut* mendapatkan aliran darah dari arteri mesenterika superior meliputi duodenum 1/3 distal, jejunum, ileum, kolon transfersum 2/3 *proximal* dan *Hindgut* yang mendapatkan suplai dari *arteria mesenterika inferior* meliputi kolon transfersum 1/3 distal, kolon sigmoid, kolon desenden dan

rectum (Tjaden, 2013). Organ ini berfungsi mencerna dan memproses makanan yang masuk lewat mulut melalui 2 mekanisme yaitu secara mekanik dengan mengunyah dan gerakan peristaltik dan secara kimia dengan cara enzimatik(Puri, 2008).

Dinding usus tersusun atas 4 lapisan yaitu lapisan *mukosa*, *submukosa*, *muskularis propria* dan *serosa*. Sedangkan mukosa sendiri tersusun atas 3 lapisan yaitu *epitelium*, *lamina propia* dan *muskularis mukosa*. Muskularis propria tersusun atas 3 lapisan yaitu lapisan otot sirkuler, ruang intermuskular dan lapisan otot longitudinal. Epitelium adalah lapisan tunggal yang terutama tersusun atas sel kolumnar absorptif dan sel sel goblet. Sel sel ini menyerupai sel sel pada usus halus hanya mikrovillinya yang belum sempurna, sel goblet juga sama dengan yang di usus halus hanya saja jumlahnya lebih banyak. Enteroendokrin pada kolon juga menyerupai pada usus halus hanya mereka biasanya soliter, ke 3 macam sel ini terbentuk dari undifferentiated sel pada kriptepitel kolon yang dalam. Lamina propria, mengisi ruang antara epitel dan mukosa muskularis, terdiri terutama stroma longgar serat kolagen halus. Stroma mengandung *fibroblast*, *limfosit*, *sel plasma*, *makrofag*, dan *eosinofil*. Banyak dari nodul limfoid besar terletak pada lamina propria kolon ini(Howard, 1970; Puri, 2008).

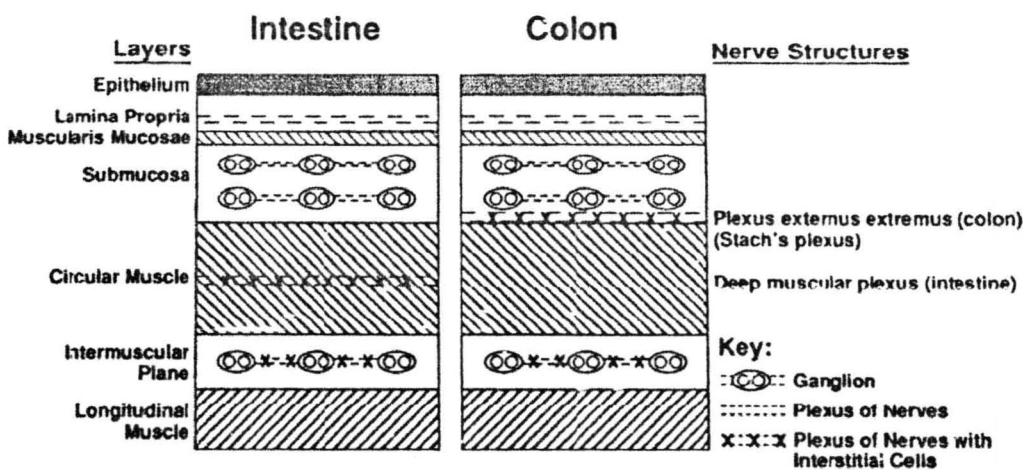
Muskularis mukosa, lembaran tipis kontinu di dasar lamina propria, terdiri jaringan serat kolagen dan elastin yang mendukung sekitar empat sampai enam lapisan sel otot polos. Sebagian besar sel-sel otot ini terletak dengan

sumbu panjang mereka di sumbu longitudinal dilapisi serosa dan di sumbu melingkar di sisi mukosa (Puri P, 2008).

Lapisan submukosa pada usus besar menyusun sekitar setengah dari total ketebalan dinding usus. Stroma longgar dari serat kolagen dan elastin di submukosa mengandung *fibroblast*, *limfosit*, *sel plasma*, *makrofag* dan *eosinofil*. Arteriol dan venula yang banyak, cabang cabangnya meluas ke mukosa yang berdekatan dan muskularis propria. Submukosa juga berisi plexus submukosa yang terdiri dari saraf *fascicles*, kumpulan proses saraf, interkoneksi ganglia, kelompok badan sel saraf. Lapisan muskularis propria merupakan otot pembungkus utama usus besar, terdiri dari dua lapisan yang berbeda dari otot halus dengan ruang *intervening*, ruang intermuskularis. Lapisan dalam terdiri kumpulan sel otot polos yang sumbu panjangnya melingkari usus. Lapisan otot sirkuler ini seragam ketebalannya di sepanjang sebagian besar usus. Permukaan submukosa ini ditutupi oleh struktur yang disebut plexus Stach, yang merupakan jaringan padat *mesenchymal*, sel yang disebut sel interstitial dari Cajal yang membentuk jaringan, di atas permukaan ini. banyak sekali kecil bundel serat saraf yang timbul dari ganglia dan tersebar di atas lapisan plexus submukosa sel interstitial (Howard, 1970; Puri, 2008).

Ruang intermuskular adalah ruang dengan ketebalan 100 mikron, tersusun atas plexus mienterikus, sel sel ganglia besar yang terbentuk bersama oleh *fascicles interganglionik bundles* dari prose syaraf, ruang ini juga terisi oleh sel Cajal jaringan pembuluh darah. Lapisan otot luar longitudinal,

stroma kolagen dan elastin yang longgar mengandung sel otot polos, secara keseluruhan, lebih tipis dari lapisan otot sirkuler. Serosa, lapisan sel epitel skuamosa, terdapat pada usus besar secara keseluruhan atau sebagian dan dipisahkan dari lapisan otot longitudinal dengan jaringan ikat tipis. Stroma ini berisi pembuluh darah dan beberapa serabut saraf ((Howard, 1970; Puri, 2008).



Gambar 3. Cross sectional diagramatik penampang usus halus dan kolon.

Sumber: Puri P, Montedenico S. *Hirschsprung's disease and Allied disorders*. 3 ed. New York: Springer, 2008

2.1.2.2 Persyarafan pada kolon

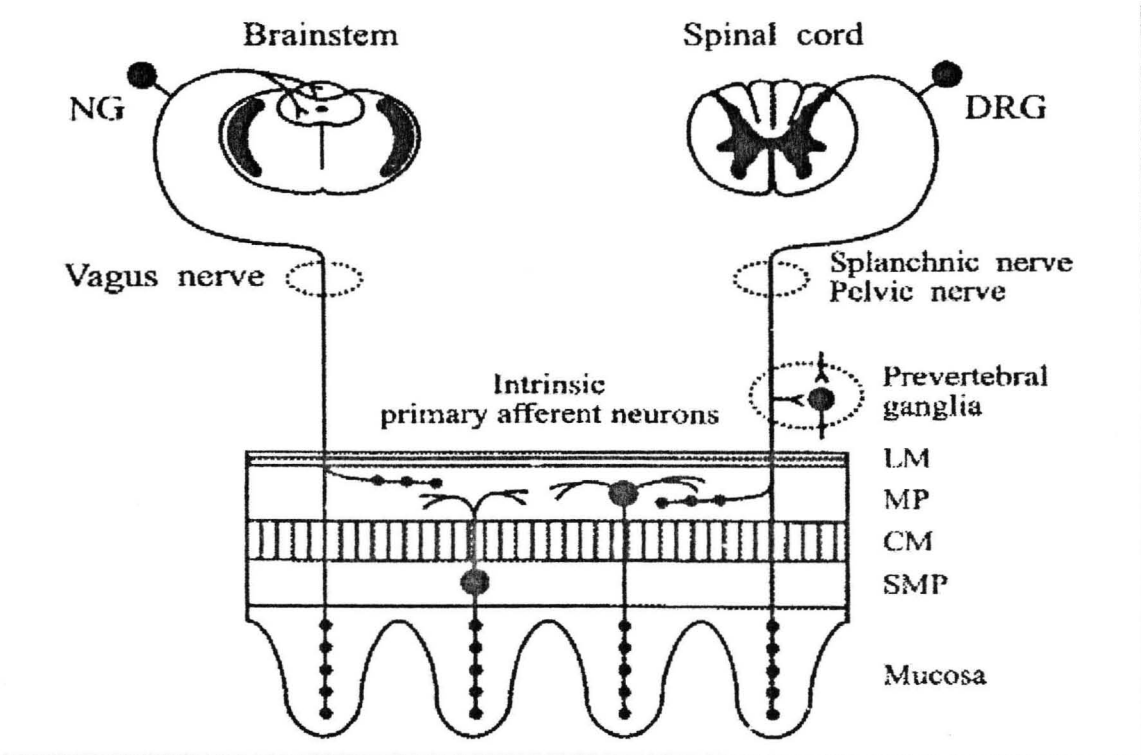
Persyarafan pada kolon terdiri dari persyarafan ekstrinsik dan persyarafan instrinsik. Usus besar mendapatkan persyarafan ekstrinsik dari nerves Vagus, nerves mesenterik dan pelvikus. Nerves Vagus memberikan persyarafan parasimpatis dari bagian cranial dari *craniosakral outflow* memberikan persyarafan keseluruh bagian dari usus sampai kolon. Nerves pelvikus berasal dari korda sakralis juga memberikan persyarafan parasimpatis ke seluruh usus besar. Nerves mesenterik berasal ganglia vertebralis. Tiga

ganglia prevertebral memberikan percabangan yang sesuai pada 3 arteri pada usus, ketiganya ini merupakan persyarafan simpatis yang keluar dari thoracolumbal dari sistem syaraf pusat (Puri, 2008). Besarnya massa dalam usus dengan sedikit persyarafan ekstrinsik membuat sulit melacak distribusi percabangan didalam organ. Pengamatan baik secara anatomis dan fisiologis menunjukkan bahwa percabangan nerves Vagus memanjang tidak sampai pertengahan kolon. Nerves pelvik mendistribusikan serabut syaraf melalui pleksus pelvik untuk sisa usus besar, percabangan nerves pelvik menembus lapisan otot melintang disekitar *rectosigmoid jungtion* dan kemudian bercabang cabang dalam ruang intermuskularis melalui rektum. Cabang cabang dari nerves dikolon ini memanjang pada plexus myenterikus sejauh colon transversum, nerves ini secara morfologis mempunyai karakteristik dari nerves ekstrinsik (Howard, 1970; Puri, 2008).

Persyarafan intrinsik. Merupakan persyarafan yang utama pada usus besar, terletak diantara 2 lapisan otot muskularis mukosa yaitu pada *intermuskularis space*, ganglion, badan syaraf dan cel enteroglia berada disini dengan distribusi yang merata, dihubungkan oleh *fascicles interganglia*. Distribusi ganglion pada plexus myenterikus menurun sepanjang usus baik ukuran maupun densitasnya, sehingga kepadatan di daerah plexus meyerikus di bagian dubur lebih rendah dibandingkan dengan daerah lainnya di kolon. Pada plexus myenterikus ini juga mengandung sel Cajal, sel sel ini terletak pada celah poligonal pada plexus bukan pada ganglia atau fasikula. Ganglion pada submukosa membentuk plexus yang berbeda dengan plexus myenterikus,

ganglion pada submukosa lebih kecil dan kurang teratur pendistribusiannya, kepadatan neuron pada plexus submukosa juga jauh lebih rendah pada usus besar dibandingkan usus kecil juga semakin menurun ke arah colon bagian distal ((Howard, 1970; Puri, 2008).

Berhubungan dengan aganglionik, ditemukan adanya peningkatan ketebalan jaringan serabut syaraf kholinergik pada daerah intermuskuler dan submukosa pada segmen aganglionik, peningkatan serabut syaraf ini berhubungan dengan persyarafan ekstrinsik preganglionik parasimpatis. Adanya pengeluaran acetylcholin yang terus menerus dari akson syaraf parasimpatis ini menghasilkan banyaknya acetylcholinesterase yang pada pemeriksaan histokimia didapatkan sampai ke mukosa lamina propria, muskularis mukosa bahkan sampai ke otot sirkuler, peningkatan serabut syaraf parasimpatis dan acetylcholinesterase ditemukan semakin banyak pada daerah distal dan menipis ke arah proximal sampai didupatkannya ganglion. Hiperplasia persyarafan kholinergik ini duga sebagai penyebab terjadinya spastisitas dari segmen aganglionik dikarenakan Acetylcholinesterase merupakan neurotransmitter utama yang menyebabkan terjadinya eksitasi (Puri, 2008).



Gambar 4. Persyarafan ekstrinsik dan instrinsik pada usus besar.

Sumber: Holzer P, Michl T, Danzer M, Jovic M, Schicho R, Lippe TH, 2001. Surveillance of the gastrointestinal mucosa by sensory neurons.

2.1.2.3 Motilitas usus

Pada usus mamalia di kenal 2 pola aktivitas, yaitu aktifitas dari *interdigestive state* dan pola mencerna makanan.

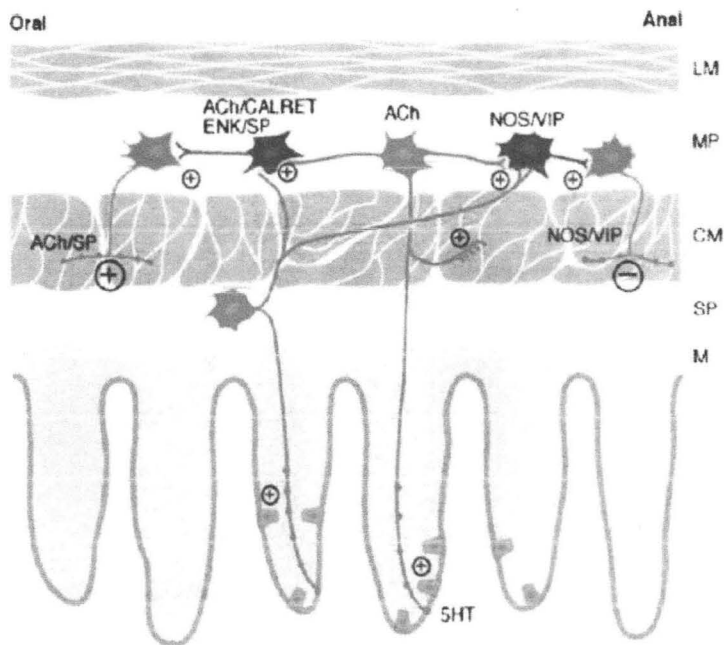
a. Migrating Myoelektric Complex (MMC)

Pada *interdigestive state* kontraksi kontraksi ini dikenal sebagai Migrating Myoelektric complex (MMC). MMC ini memerlukan waktu antara 6 sampai 10 setiap melewati bagian dari usus, bila bagian dari usus ini di lewati akan terjadi kontraksi secara ritmis pada otot sirkuler. MMC ini dikenal sebagai penjaga usus dimana dia berperan dalam membuang sisa-sisa material yang tidak diserap dalam usus halus, mengontrol flora normal pada usus, menjaga

kembalinya bakteri ke dalam kolon dan mencegah overgrowth kuman. MMC ini akan menghilang sesaat setelah makan dan digantikan oleh aktivitas mencerna makanan atau gerakan peristaltik. Baik gerakan MMC maupun gerakan peristaltik dibawah kendali dari ENS tetapi dibantu oleh persyarafan ekstrinsik(Puri, 2008).

b. Gerakan Peristaltik

Gerakan peristaltik merupakan bagian dari proses pencernaan yang mendorong makanan ke arah anal, yang terdiri atas kontraksi otot sirkuler, reflek rangsangan *ascending*, relaksasi pada bagian anal, reflek hambatan *descending*. Sebagai tambahan otot longitudinal bagian anal akan relaksasi jika otot longitudinal bagian oral berkontraksi. Adanya makanan akan merangsang keluarnya 5 HT (5-hydroxytryptamine) dari sel entero endoktrin, IPAN (intrinsic primary afferent Neurons) dari plexus *myentericus* di mukosa dan submukosa akan terangsang keluar dan akan mengaktivasi ke arah proximal (oral) dan ke arah distal (anal), selain itu IPAN ini juga bisa terangsang keluar oleh rangsangan langsung yaitu adanya distensi pada dinding usus. Aktifasi IPAN secara orai akan mengakibatkan keluarnya interneuron *acetylcholine*, *calretinin*, *enkephalins* dan *substance P* yang akan merangsang *excitatory* motor neuron pada otot sirkuler dengan keluarnya *acetylcholine* dan *substance P*. Sedangkan rangsangan IPAN ke arah distal atau anal akan merangsang keluar interneuron Nitric Oxide (NO) dan *Vasoactive intestinal peptide*. Interneuron ini akan menstimulasi *inhibitory motor neuron* (Puri, 2008).



Gambar 5. Gambaran reflek ascending dan descending yang mengontrol peristaltik pada usus
 Sumber: 10. Puri P, Montedenico S. *Hirschsprung's disease and Allied disorders*. 3 ed. New York: Springer,2008

2.2 Diagnostik penyakit Hirschsprung

2.2.1 Gejala Klinis

Gejala klinis Penyakit Hirschsprung bervariasi, pada bayi biasanya keluhan yang paling menonjol adalah di dapatkannya keterlambatan keluarnya mekonium, perut distensi, muntah kehijauan, konstipasi, diare, kuning, dan kesulitan makan, juga di dapatkan keluhan panas, sedangkan pada anak dengan usia yang lebih besar keluhan yang sering didapatkan adalah pembesaran pada abdominal juga konstipasi yang kronik disusul dengan diare yang eksplosif, malnutrisi, dan penumpukan kotoran (Chirdan, 2006; Jurgen, 2013). Beberapa peneliti melakukan pengamatan klinis pada pasien dengan penyakit Hirschsprung.

Penelitian kohort restrospektif di Rumah Sakit Al sabah Kuwait (Ziad, 2006), gambaran klinis dan pathologi 102 pasien dengan penyakit Hirschsprung, hasilnya 84 pasien mengalami konstipasi, 9 orang mengalami perut distended, 6 pasien mengalami obstruksi intestinal dan 3 orang mengalami perforasi. Di Guilan, Iran. Keluhan terlambat keluarnya mekonium di alami oleh 10 pasien (17,3%)dari 58 pasien, konstipasi kronik di alami oleh 46 pasien (79.3 %), perut membesar sebesar 39 pasien 67.3 %. Muntah di alami oleh 5 pasien 8.6% dan diare dan enterocoliti di alami oleh 3 pasien 5.2% (Izadi, 2007). Vincent melakukan pengamatan selama 16 tahun pada pasien penyakit Hirschsprung yang telah di lakukan operasi di Rumah Sakit Barbados. Dari 27 pasien 14 pasien mengalami konstipasi, 6 pasien mengalami muntah berwarna kehijauan, 6 pasien mengalami tidak mengalami muntah kehijauan dan perut yang membesar, dan hanya 1 pasien yang mengalami nyeri perut (Vincent, 2003). Sedangkan Chirdan (2006) pada penelitiannya di bedah anak Nigeria selama 9 tahun menemukan gambaran yang berbeda. Hasilnya dari 31 neonatus, 87% datang dengan keluhan mekonium yang terlambat, 71% dengan perut yang membesar, 27% dengan muntah kehijauan , dan 10% datang dengan keluhan panas dan diare, serta hanya 1 % yang mengeluhkan konstipasi. Sedangkan Nasir dan kawan kawan meneliti penyakit Hirschsprung ini selama 8 tanun di Nigeria dengan keluhan terlambat keluarnya mekonium 10 anak (47.9%)muntah didapatkan pada 9 anak (42.9%) konstipasi kronik pada 13 anak (61,9%) perut membesar didapatkan pada 21 anak (100%) (Nasir, 2007)

2.2.2 Pemeriksaan Radiologis

Pada pasien dengan penyakit Hirschsprung pada bayi keluhan yang dominan biasanya adalah perut yang membesar dan keterlambatan keluarnya mekonium pada hari pertama kelahirannya. Pemeriksaan radiologi dengan plain foto abdomen biasanya rutin dikerjakan. Pemeriksaan radiologi awal pasien yang diduga dengan penyakit Hirschsprung adalah dengan foto polos abdomen dengan posisi terlentang, lateral decubitus atau dengan posisi *prone lateral view*. Pada pemeriksaan ini pasien dengan penyakit Hirschsprung akan menunjukkan dilatasi pada usus atau proksimal kolon. Namun demikian pada pemeriksaan ini belum bisa di bedakan dengan kelainan yang lain seperti atresia kolon(Carpenter, 1967).

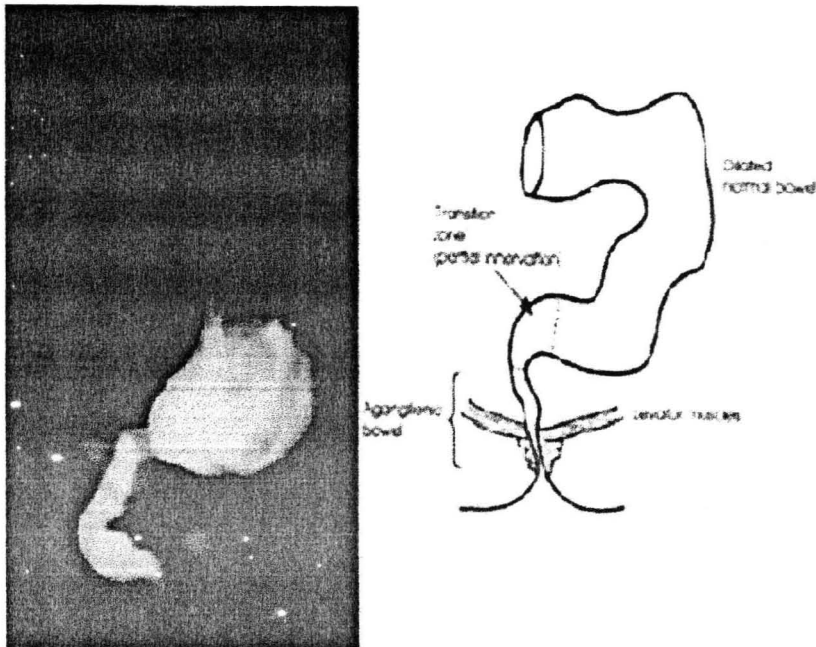


Gambar 6. Foto polos abdomen bayi pada 30 jam pertama dengan keluhan abdomen distended dan meconium belum keluar

Sumber: Puri P, Montedenico S. *Hirschsprung's disease and Allied disorders*. 3 ed. New York: Springer, 2008

Florino berpendapat yang berbeda mengenai pemeriksaan barium enema pada bayi dengan kecurigaaan penyakit Hirschsprung. Peneliti ini menyarankan pemeriksaan enema sebaiknya dilakukan pada bayi setelah berusia 1 bulan, karena pada beberapa minggu awal segmen proksimal ganglion belum mengalami dilatasi yang signifikan. Gambaran klasik yang di temukan pada barium enema pada pasien dengan penyakit hirschsprung adalah adanya penyempitan didaerah transisi antara colon proksimal dilatasi yang normal dengan segmen distal aganglionik yang ukurannya lebih kecil. Apabila gambaran klasik ini tidak ditemukan bisa digunakan perbandingan antara diameter rektum dan diameter colon, jika ukurannya rektum sama atau lebih kecil dari ukuran sigmoid bisa dipikirkan suatu penyakit hirschsprung. Namun demikian bila terjadi enterokolitis pada pasien penyakit Hirschsprung sebaiknya pemeriksaan dengan barium enema ditunda dahulu (Florino, 2011)

Tehnik pemeriksaan dengan barium enema adalah dengan memasukan barium yang sudah diencerkan dengan air hangat dengan perbandingan 1:1 menggunakan spuit 50 cc dan dimasukan pelan pelan. Semuanya di lakukan di bawah fluoroskopi, setelah dimasukkan barium akan di tunggu 4 jam sampai 24 jam untuk melihat adanya residu dari barium (Madhan, 2011; Puri, 2008).



Gambar 7. Menunjukkan adanya penyempitan bagian rektosigmoid dan bagian proksimal yang mengalami pelebaran.

Sumber: Mandhan P. Hirschsprung's Disease Scientific Update. SQU Med J 2011:138-45.

Pada beberapa jurnal di temukan angka sensitifitas dan spesifisitas yang bermacam macam dengan pemeriksaan ini.

Chirdan melakukan penelitian di Jos University pada bulan januari 1996 sampai Desember 2004. Dengan sampel sebesar 31 pasien yang terdiagnosa suatu penyakit Hirschsprung hanya 23 pasien yang bisa di lakukan pemeriksaan dengan barium enema. Adanya perubahan ukuran pada kolon dan dilatasi pada proksimal kolon didapatkan pada 17 pasien. Angka sensitifitas pada penelitian ini sebesar 68%(Chirdan, 2006).

Janet dan kawan kawan melakukan penelitian dengan membandingkan pemeriksaan barium enema dengan *anorectal manometri* dan biopsi untuk menyingkirkan penyakit Hirschsprung setelah periode neonatal. Peneliti melakukan review data dari pasien yang datang di bagian pediatrik

gastroenterologi di Rumah sakit anak di Boston antara tahun 1992 sampai tahun 1998. Hasilnya dari 6 tahun penelitian ada 87 pasien yang di lakukan pemeriksaan dengan barium enema. 54 pasien dilanjutkan dengan pemeriksaa *anorectal manometri* dan biopsi, dari 54 pasien itu 48 hasil pemeriksaan barium enema hasilnya normal sedangkan pada *anorectal manometri* dan biopsi ada 1 yang hasilnya positif dengan penyakit Hirschsprung. Sedangkan 6 pasien pada barium enema hasilnya menunjukkan gambaran penyakit hirschsprung ternyata dari pemeriksaan *anorectal manometri* hanya 5 yang positif dengan penyakit Hirschsprung. Pada penelitian ini angka sensitifitasnya sebesar 83% dan spesifisitasnya sebesar 93% (Janet, 2000).

Pratap dan kawan kawan menggunakan plain abdominal radiograph transition zone (PARTZ) untuk mendiagnosa pasien dengan penyakit Hirschsprung. Penelitian prospektif observasional di lakukan pada bulan Maret 2004 sampai Maret 2006 dengan sampel 27 neonatus dan bayi yang pada biopsi terbukti dengan kelainan penyakit Hirschsprung. Semua sampel dilakukan PARTZ dan kontras enema (CETZ) dan diikuti dengan biopsi rektum. Hasil PARTZ dan CETZ dibandingkan dengan kesimpulan patologi anatomi, hasilnya dari 27 sampel PARTZ di dapatkan pada 24 (89%) sampel, dari 24 sampel ini kemudian dicocokkan dengan daerah aganglionik didapatkan hasil 22 (92%) sampel cocok antara PARTZ dan daerah aganglionosis. Sedangkan pada sampel yang dilakukan CETZ di dapatkan pada 18 (78%) sampel yang hasilnya sama dengan biopsi, dan setelah dilakukan korelasi dengan daerah aganglionik di dapatkan hasil 13 (72%) dari 18 sampel sesuai antara

pemeriksaan CETZ dengan daerah aganglionik. Dari hasil ini peneliti menyimpulkan bahwa pemeriksaan dengan plain abdominal radiograph transition zone lebih dipercaya untuk memprediksi level daerah aganglionik dibandingkan dengan kontras enema (Pratap, 2007).

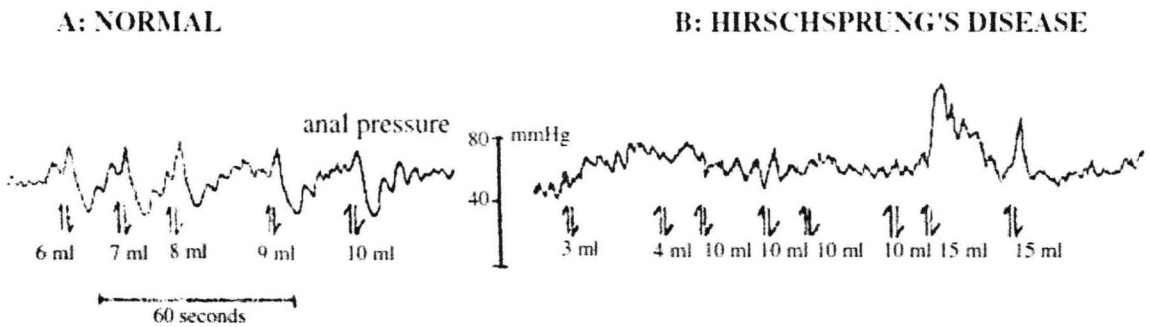
De Lorjin meneliti akurasi pemeriksaan kontras enema untuk mendiagnosa penyakit Hirschsprung, sampel sebesar 111 anak yang dicurigai dengan penyakit Hirschsprung antara tahun 2000 sampai 2003. Pasien yang akan dilakukan pemeriksaan dengan CE tidak dilakukan persiapan sebelumnya, kemudian dari rektal dimasukkan kontras yang sudah diencerkan dengan perbandingan 1:3 dengan menggunakan kateter dan kateter dimasukkan ke dalam rektum sejauh yang bisa dicapai. Hasil foto dikatakan positif jika terdapat perubahan ukuran antara segmen distal yang aganglionik yang kecil atau normal dengan segmen ganglionik proksimal yang dilatasi. Hasilnya 19 dari 28 pasien dengan CE positif, terbukti dengan penyakit Hirschsprung, 6 orang yang pada pemeriksaan histologi terbukti penyakit hirschsprung tetapi pada pemeriksaan CE hasilnya negatif hal ini karena kateter tidak dilepas pada waktu difoto dan kemungkinan overdistensi saat memasukkan kontras, 2 pasien pada pemeriksaan CE hasilnya positif tetapi hasil histologinya merupakan konstipasi fungsional. Dari penelitian ini disimpulkan sensitifitas pemeriksaan CE sebesar 76% dan spesifisitasnya sebesar 97% (Lorijn, 2005)

2.3 Diagnosis Fungsional

Anorektal manometri biasanya digunakan untuk memeriksa bermacam macam kelainan anorektal seperti konstipasi, *pelvic floor dyssynergia* dan Hirschsprung disease. Dasar dari pemeriksaan ini adalah mengukur tekanan sphingter anorektal, sebagai respon dari distensi pada rektum. Pada pemeriksaan dengan menggunakan anorectal manometri bisa membedakan kelemahan tekanan fungsional dari 2 atau salah satu otot sphingter berdasarkan 4 macam informasi dari 4 macam tekanan yaitu tekanan saat istirahat, tekanan squeezing, tekanan tinggi, dan reflek hambatan rektoanal atau Recto Anal Inhibitory Reflex (RAIR). Pada pemeriksaan ini balon dimasukkan kedalam rektum kemudian dikembangkan, pada saat balon dikembangkan seharusnya terjadi reaksi dari sphingter ani interna. Angka sensitifitas dan spesifisitas dilaporkan bervariasi pada beberapa jurnal, namun demikian pemeriksaan ini sulit dilakukan bayi-bayi yang masih muda. Jika hasil pemeriksaan *anorectal manometri* positif bisa menyingkirkan diagnosa sebagai penyakit Hirschsprung tetapi jika negatif (tidak terdapat RAIR) maka besar kemungkinan suatu kelainan penyakit Hirschsprung dan memerlukan pemeriksaan tambahan yang lain seperti barium enema dan biopsi hisap rektum (Kara, 2003).

Pada gambar 5 anorectal manometri pasien dengan penyakit Hirschsprung dibandingkan dengan anak normal terlihat panah panah menunjukkan distensi dalam 1 detik, adanya distensi pada balon akan diikuti oleh relaksasi sphingter ani interna yang pada gambar terlihat adanya penurunan

tekanan anal (*anal pressure*), sebaliknya pada pasien dengan penyakit Hirschsprung adanya distensi pada balon tidak menyebabkan penurunan *anal pressure*. Tidak adanya reflek *rectosphincteric* pada pasien ini dikonfirmasi dengan tidak adanya sel ganglion pada pemeriksaan dengan biopsi hisap rektum (Lorenzo, 2002).



Gambar 8. Anorectal manometri pasien dengan penyakit Hirschsprung dibandingkan dengan anak normal

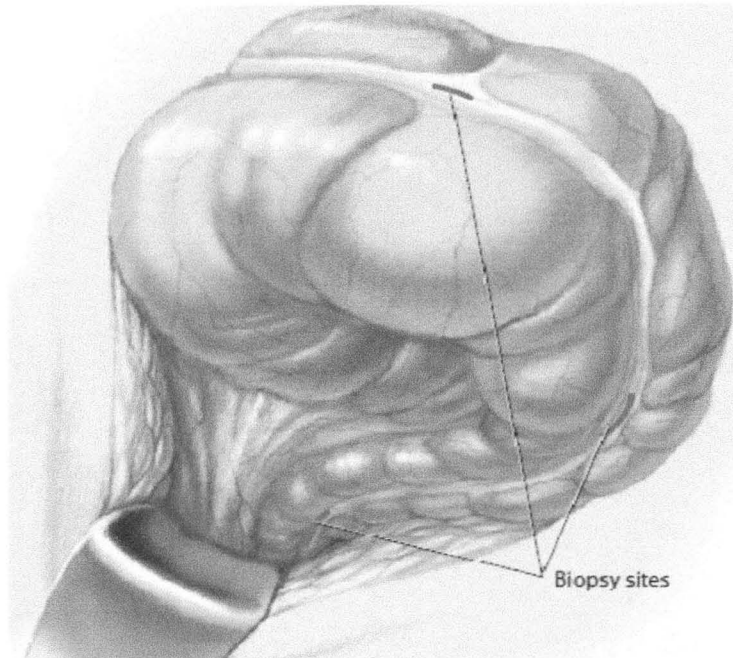
Sumber: Lorenzo Cd, Hillemeier C, Hyman P, Loening-Bauck V, Nurko S, Rosenberg A, et al. Manometry studies in children: minimum standards for procedures. *Neurogastroenterol. Mot.* 2002; 411-20

Huang melakukan penelitian di rumah sakit anak Fudan University, dari bulan Januari 2003 sampai Juni 2005 terdapat 75 pasien yang dicurigai dengan penyakit Hirschsprung, pasien dilakukan pemeriksaan dengan anorektal manometri yang dikonfirmasi dengan pemeriksaan biopsi hisap rektum, hasilnya dari 75 pasien yang dicurigai hanya 52 pasien yang hasil pemeriksaan anorektal manometri positif, dan dari 52 pasien tersebut 48 pasien hasil biopsi hisap rektumnya menunjukkan adanya segmen aganglionik. Sensitivitas penelitian ini sebesar 92.3% dengan false positif 1.9 dan false negatif sebesar 3.8% (Huang, 2009).

De Lorijn meneliti akurasi pemeriksaan dengan anorektal manometri pada 111 pasien pada tahun 2000-2003 yang dicurigai dengan penyakit hirschsprung. Sebelumnya pasien dipersiapkan dulu dengan diberikan enema kemudian dilakukan pemeriksaan dengan memasukkan alat kateter yang ditempatkan pada daerah spingter ani yang mempunyai tekanan tinggi dan balon diletakkan ke dalam rektum. Untuk melihat adanya RAIR diberikan udara 2 sampai 60 mL pada balon untuk membuat distensi. Reflek di katakan normal bila adanya distensi pada rektum membuat relaksasi dari spinter ani minimal 5 mmHg selama 2 sampai 5 detik. Bila RAIR ditemukan 3 kali maka bukan suatu penyakit Hirschsprung. Hasilnya pada penelitian ini 19 anak dengan RAIR positif dan hasil pada histopatologinya menunjukkan suatu penyakit Hirschsprung, 4 sampel yang secara histologi terbukti dengan penyakit Hirschsprung tetapi pada pemeriksaan ARM terjadi relaksasi spingter ani interna saat balon dikembangkan, 3 diantaranya umumnya kurang dari satu bulan, peneliti menduga hal ini karena fungsi anorektal yang masih belum sempurna terutama pada bayi prematur dan bayi cukup bulan yang usianya kurang dari 12 hari. 5 sampel pada pemeriksaan ARM menunjukkan hasil yang positif tetapi pada pemeriksaan histologi bukan suatu penyakit Hirschsprung kemungkinan karena tekanan pada balon yang kurang sehingga tidak memberikan distensi yang cukup pada rektum beberapa anak. Peneliti menyimpulkan sensitifitas pada pemeriksaan ini sebesar 83% dan sensitifitasnya sebesar 93%(Lorijn, 2005).

2.3.1 Biopsi Rektum

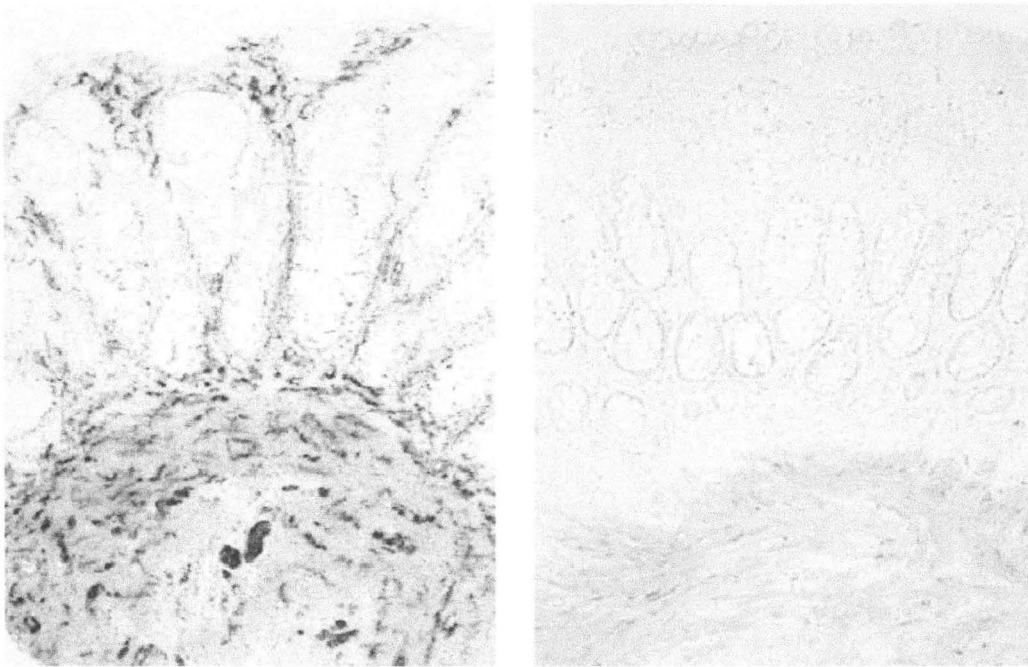
Biopsi rektum / *Rectal biopsy* merupakan pemeriksaan baku emas pada penyakit Hirschsprung ini. Pemeriksaan ini dilakukan dengan cara mengambil sampel sampai ke dalam lapisan submukosa dimana ganglion pada pleksus di submukosa, dan ganglion pada pleksus myenterikus didapatkan. Pada pemeriksaan patologi anatomi bahan sampel kolon pasien dengan penyakit ini tidak akan ditemukan sel ganglion dan adanya peningkatan jaringan serabut syaraf yang pada pulasan histokimia didapatkan peningkatan aktifitas Acetylcolinesterase (Acetylcholinesterase) yang pada jaringan syaraf secara normal sedikit di dapatkan atau bahkan tidak ada sama sekali (Trigg, 1973; De, 1980; Alizai, 1998). Pemeriksaan ini biasanya di lakukan dengan mengambil sedikit jaringan submukosa 2-5 cm di atas linea dentata, pengambilan biasanya pada 1-3 tempat (Dick.,1970). Namun ada juga pendapat bahwa pengambilan bahan pada *full-thickness biopsy* ini adalah mengambil seluruh jaringan dari koion. Pemeriksaan *full-thickness biopsy* ini memerlukan persiapan khusus diantaranya pasien harus rawat inap dan dilakukan di bawah pembiusan total, selain itu prosedur pemeriksaan ini juga dilaporkan bisa menimbulkan komplikasi meskipun kemungkinannya kecil diantaranya yaitu perdarahan sesudah tindakan, perforasi maupun meningkatnya resiko terjadinya sepsis (Weintrop, 1977; Babu, 2003; Alizai, 1998).



Gambar 9. Lokasi tempat dilakukannya biopsi rektum.

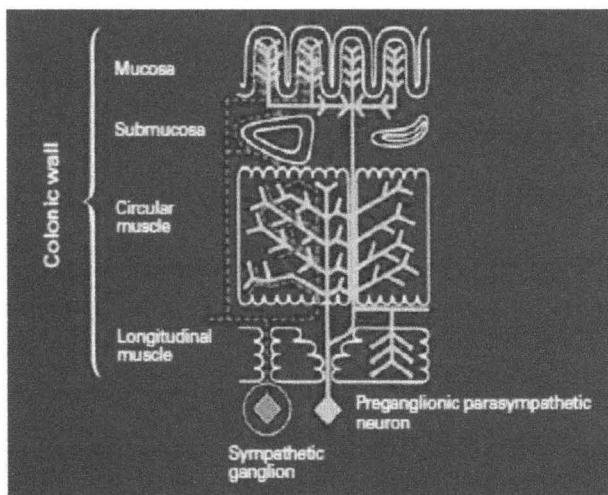
Sumber: Puri P, Montedenico S. *Hirschsprung's disease and Allied disorders*. 3 ed. New York: Springer, 2008.

Gambar 9. Dinding abdomen dibuka melalui insisi *Pfannenstiel*, tempat biopsi dipilih berdasarkan lokasi daerah transisional, pada kasus rectosigmoid agangliosis, 3 tempat biopsi diambil sepanjang permukaan anti mesenterika tanpa memasuki lumen, 1 biopsi dilakukan pada segmen usus yang mengecil, biopsi yang ke-2 diambil didaerah transisi, dan biopsi ke-3 dilakukan pada daerah yang membesar diatas daerah transisi (Puri, 2008). Bahan dari sampel ini selanjutnya akan dilakukan pulasan dengan histokimia Acetylcholinesterase, pasien dikatakan positif dengan penyakit Hirschprung apabila didapatkan peningkatan jaringan serabut syaraf yang pada pemeriksaan Acetylcholinesterase memberikan warna coklat kehitaman.



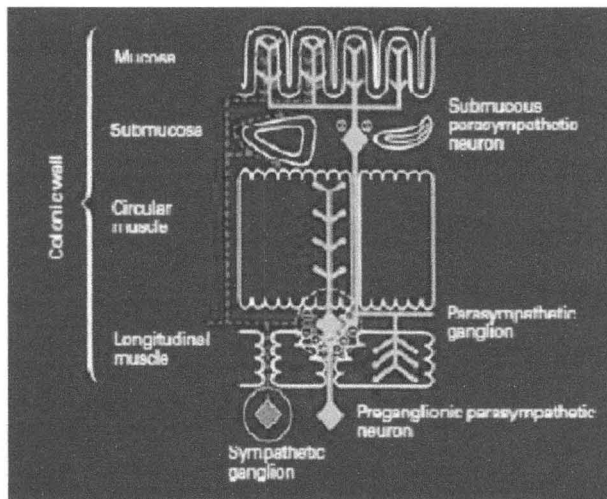
Gambar 10. Menunjukkan biopsi mukosa rektum yang didapatkan kenaikan aktifitas Acetylcholinesterase pada jaringan syaraf parasimpatis pada muskularis mukosa dan mukosa lamina propria (b)menunjukkan reaksi Acetylcholinesterase pada mukosa rektum yang normal, hanya terwarnai Acetylcholinesterase lemah pada muskularis mukosa.

Sumber: Meier-Ruge A William, Bruder Elisabeth. Pathology of Chronic Constipation in pediatric and adult Coloproctology.Paris. Karger, 2005.



Gambar 11. Penjelasan skematik rektum yang tidak berganglion dengan peningkatan aktifitas Acetylcholinesterase pada jaringan syaraf muskularis mukosa dan propria

Sumber: Meier-Ruge A William, Bruder Elisabeth. Pathology of Chronic Constipation in pediatric and adult Coloproctology.Paris. Karger, 2005.



Gambar 12. Penjelasan skematis persyarafan yang normal dari dinding rektum.

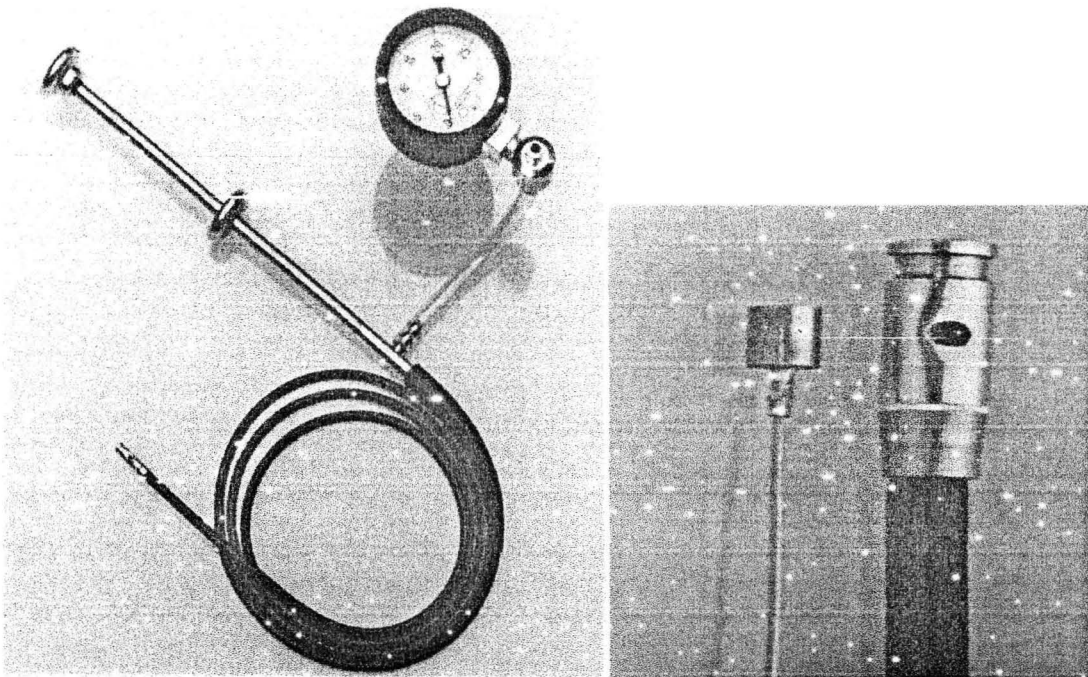
Sumber: Meier-Ruge A William, Bruder Elisabeth. Pathology of Chronic Constipation in pediatric and adult Coloproctology. Paris. Karger, 2005.

2.3.1.1 Biopsi Hisap Rektum

Baku emas diagnosis dari penyakit Hirschsprung adalah dengan *full thickness biopsy* tetapi prosedur ini membutuhkan persiapan khusus dan secara tehnik sulit dilakukan, saat ini di negara negara lain di dunia sudah menggunakan biopsi hisap rektum yang lebih mudah, lebih aman dan tidak memerlukan persiapan khusus. Biopsi hisap rektum ini secara perlahan lahan menggantikan pemeriksaan konvensional *full-thickness biopsy* di beberapa institusi (Park, 1992 ; Barberi, 2010).

Pada pemeriksaan ini pasien tidak diperlukan persiapan khusus, hanya dilakukan pengosongan lambung dan diberikan pencahar, pasien juga tidak diperlukan pembiusan. Pemeriksaan dengan cara ini juga bisa dilakukan di tempat tidur pasien sehingga memungkinkan pemeriksaan ini dilakukan pada pasien rawat jalan. Sebelum alat biopsi hisap dimasukkan ujung dari alat ini diberikan lubrikan sehingga pasien tidak merasakan kesakitan, kemudian

dimasukkan *rectal suction tube* untuk Hirschsprung disarankan penghisapan dilakukan pada 3 tempat yaitu 1 cm proximal linea dentate, 3-4 cm dan 6-8 proximal dari linea dentata, sedangkan untuk Hirschsprung ultrashort dilakukan pada 4 tempat yaitu daerah transisi pada mukosa rektum dan 1 cm proximal linea dentate, 3-4 cm dan 6-8 proximal dari linea dentata kemudian dilakukan penghisapan mukosa dan submukosa. Harus dipastikan bahwa bahan yang terambil mengandung cukup jaringan mukosa dan submukosa untuk mendapatkan sampel yang adekuat (Puri, 2008)

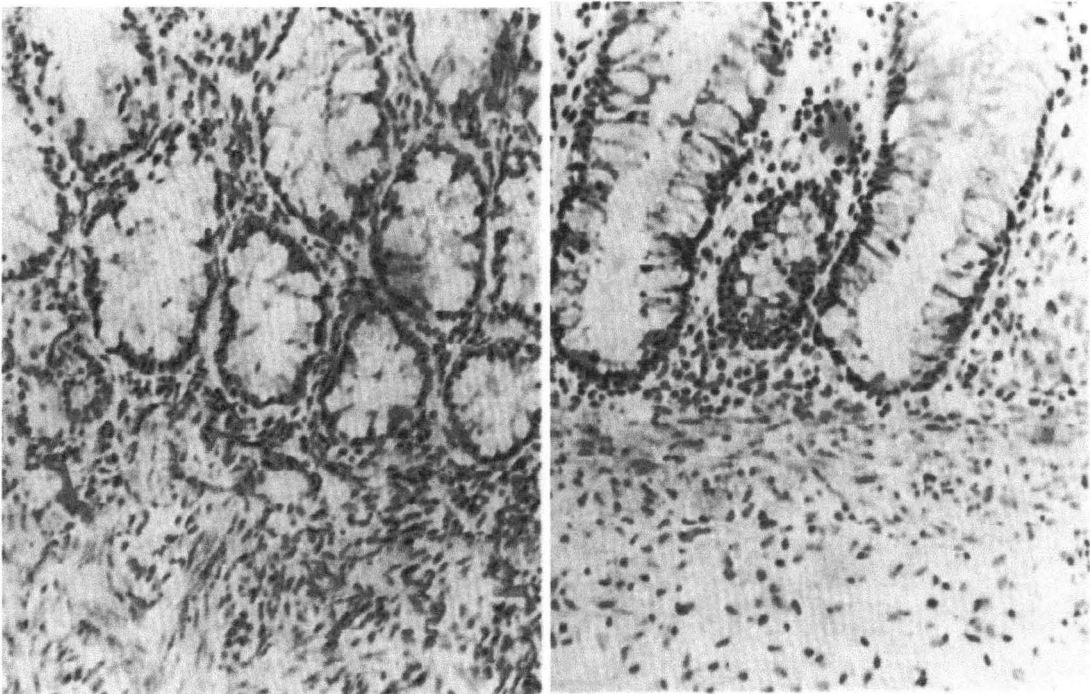


Gambar 13. a. Alat biopsi hisap rektum b. Pemotong biopsi

Sumber: Andrassy J Richard ., Isaacs Hart ., Weitzman J Jordan ., 1981. Rectal suction biopsy for the diagnosis of Hirschsprung's disease. Ann surg 419-424.

Setelah bahan sampel ini terambil selanjutnya akan dilakukan pemotongan dengan Cryostat, ketebalan bahan yang dipotong potong dengan Cryostat minimal 15 μm karena akan berkurang saat pemrosesan dengan ketebalan akhir adalah 4.7 μm . Ketebalan dari bahan ini penting karena jumlah

jaringan akan mempengaruhi reaksi enzimatik yang akan terjadi, dengan ketebalan 4 μm pada Cryostat akan memberikan ketebalan akhir 1.2 μm pada ketebalan ini tidak akan terjadi reaksi enzimatik karena jumlah enzim kurang dari jumlah enzim yang minimal bisa memberikan reaksi (Meier-Ruge, 2005)



Gambar 14. A menunjukkan Acetylcholinesterase positif, terdapat jaringan hipertropik pada jaringan mukosa, submukosa dan lamina propria, B menunjukkan jaringan yang normal tidak ada peningkatan jaringan kolinergik pada daerah mukosa dan submukosa.

Sumber: Park WH, Choi SO, Kwon KY, Chang ES. Acetylcholine histochemistry of rectal suction biopsies in the diagnosis of hirschsprung's disease. *Journal of Korean Medical Science* 1992:353-59.

Park melakukan biopsi hisap rektum yang dilanjutkan pemeriksaan Acetylcholinesterase pada 37 bayi di Korea, hasilnya didapatkan sensitifitas sebesar 92% dan spesifisitas nya 100 % (Park, 1992). Kurier pada penelitiannya di London Inggris melakukan validitas penggunaan rectal suction yang dilanjutkan dengan pulasan histokimia Acetylcholinesterase untuk

mendiagnosis penyakit Hirschsprung dan membandingkannya dengan fullthickness biopsi didapatkan sampel 72 dengan hasil baik sensitifitas maupun spesifisitasnya sebesar 100%(Kurer, 1986).

Orno Ax Shofie membandingkan pemeriksaan rectal suction biopsi dengan histokimia Acetylcholinesterase dengan baku emas *full-thickness biopsy* untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung dari 65 sampel selama 6 tahun di Swedia, didapatkan hasil sensitifitas sebesar 94% dan spesifisitas 100% (Orno, 2014).

Gugelmin meneliti akurasi reaksi Acetylcholinesterase pada rectal biopsi pasien yang akan dilakukan operasi dengan kecurigaan penyakit Hirschsprung di Brazil, hasilnya akurasi biopsi hisap rektum dengan pulasan Acetylcholinesterase sebesar 95.59% dengan spesifisitas 50%, positive prediktif value sebesar 100% dan negative prediktif value sebesar 50%(Gugelmin, 2005).

Andrassy di California, Amerika Serikat pada 444 pasien yang dilakukan rectal suction biopsi didapatkan 82 pasien yang terbukti dengan penyakit Hirschsprung, hasilnya baik sensitifitas maupun spesifisitasnya 100%(Andrassy, 1980).

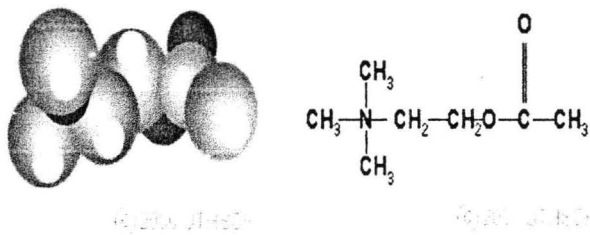
Bagdzevicius melakukan penelitian untuk melihat sensitifitas dan spesifisitas pewarnaan dengan Acetylcholinesterase pada biopsi hisap rektum dibandingkan dengan *full thickness biopsy* di klinik bedah anak rumah sakit Lithuania dengan sampel 11 neonatus dan 29 bayi yang diduga dengan penyakit Hirschsprung, hasilnya pada 2 sampel neonatus didapatkan

pewarnaan Acetylcholinesterase positif dan setelah dilakukan operasi memang sampel terbukti dengan penyakit Hirschsprung. 3 sampel pada pewarnaan Acetylcholinesterase hasilnya negatif tetapi setelah dilakukan pemantauan selama 3 bulan kondisi memburuk dan dilakukan operasi hasil *full thickness biopsy* menunjukkan pasien dengan penyakit Hirschsprung (false negatif), 6 sampel pada pemeriksaan Acetylcholinesterase pada *rectal suction biopsy* hasilnya negatif dan setelah dilakukan pemantauan gejala klinis konstipasi membaik. Pada neonatus peneliti mendapatkan angka sensitifitas 40% dan spesifisitas 100%. Sedangkan pada bayi didapatkan hasil yang sebaliknya. 20 sampel yang positif pada pemeriksaan dengan Acetylcholinesterase hasilnya sesuai dengan *full thickness biopsy* yang menunjukkan sampel dengan penyakit Hirschsprung dan 8 sampel yang pada histokimia Acetylcholinesterase negatif setelah dilakukan terapi konservatif kondisinya membaik, 1 sampel pada pengecatan Acetylcholinesterase menunjukkan hasil yang positif setelah dilakukan reseksi ternyata ditemukan ganglion pada submukosa dan diagnosa suatu neuronal dysplasia, false positif pada penelitian ini kemungkinan disebabkan karena bahan terkontaminasi dengan darah, hal ini karena terdapat konsentrasi Acetylcholinesterase yang tinggi pada permukaan sel darah merah. Peneliti mendapatkan angka sensitifitas dan spesifisitas pada bayi yang dilakukan pemeriksaan *rectal suction biopsy* yang diwarnai dengan Acetylcholinesterase sebesar 100% dan 88.8% (Bagdzevicius, 2011).

2.4 Acetylcholinesterase pada penyakit Hirschsprung

Diagnosis penyakit Hirschsprung ditegakkan dengan *fullthickness biopsy* untuk melihat tidak adanya ganglion pada plexus Aurbach yang terletak antara lapisan otot memanjang dan otot melingkar pada dinding usus, sebagai alternatif dilakukan pemeriksaan biopsi hisap rektum yang bahannya mengambil dari lapisan submukosa, tetapi laporan pada penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa tehnik ini membutuhkan usaha yang lebih keras dari dokter patologi anatomi karena pemeriksaan ini membutuhkan beberapa bahan atau sampel sebelum dokter patologi anatomi memberikan kesimpulan (Theodore, 1986; Caroline, 1982; Santos, 2008).

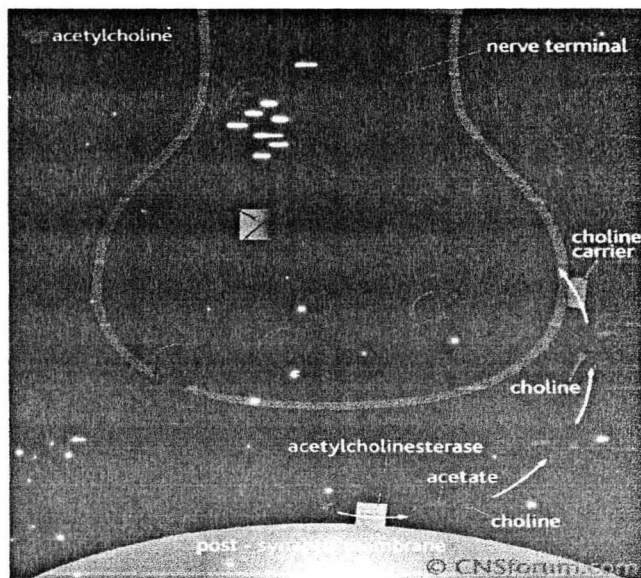
Acetylcholinesterasetylcholin adalah salah satu neurotransmitter (zat kimia penghantar) yang paling umum dikenal. Zat yang ditemukan pertama kali oleh Otto Leuwi ini berperan dalam mentransmisikan sinyal yang diterima dan didistribusikan ke sel sel syaraf yang berdekatan. Acetylcholin mempunyai rumus kimia $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ dan ini tersebar di seluruh tubuh manusia, terutama banyak terdapat didalam sistem saraf tepi (otonom). Pada sistem syaraf autonom Acetylcholin ini merupakan neurotransmitter pada neuron preganglinik simpatik dan neuron parasimpatis. Sedangkan pada sistem syaraf perifer ACh ini merupakan neurotransmitter pada *neuromuscular junction* antara syaraf motorik dan otot skeletal dan senyawa ini dikeluarkan dengan adanya stimulasi syaraf. Segera setelah dikeluarkan, asetilkolin akan berdifusi dicelah antar-sinapsis dan menstimulasi syaraf-saraf lainnya (Garrett, 1969; Anglade, 2010).



Gambar 15. Struktur kimia Acetylcholin

Sumber: di unduh dari:file:///C:/Users/ASUS/Pictures/edu%20synap.htm Tgl 28 Oktober 2014

Pada penderita dengan penyakit Hirschsprung, terjadi peningkatan jaringan syaraf kolinergik pada daerah intermuskuler dan segmen aganglionik, serabut syaraf ini terlihat lebih tebal dan berhubungan dengan saraf ekstrinsik preganglionik parasimpatis. Adanya rangsangan terus menerus akan menyebabkan terjadinya pelepasan acetylcholin dari ujung ujung syaraf dimana dan terjadi penumpukan acetylcholin ini pada lamina propria, muscularis mukosa bahkan pada otot sirkuler yang pada pemeriksaan dengan pulasan histokimia acetylcholinesterase akan menunjukkan peningkatan aktifitas (Meier-Ruge, 2005; Puri, 2008; Anglade, 2010).



Gambar 16. Sintesis, penyimpanan dan pelepasan Acetylcholin

Sumber: diunduh dari

https://www.cnsforum.com/educationalresource/imagebank/dementia_cholinergic/rcpt_sys_ach_esterase tgl 28 oktober 2014.

Perdarahan pada jaringan mukosa merupakan salah satu karakteristik suatu artefak yang dapat menyebabkan gambaran hasil positif palsu atau pada *haemorrhagic specimens*, hasil ini dikarenakan permukaan sel darah merah mengandung konsentrasi Acetylcholinesterase yang tinggi, tetapi seharusnya artefak ini tidak boleh disalahartikan karena pada artefak tidak terdapat jaringan serabut syaraf (Blisard, 1986; Meier-Ruge, 2005).

Sedangkan negatif palsu lebih bisa ditemukan pada pasien dengan usia yang sangat muda hal ini disebabkan karena imaturitas dari sistem enzim Acetylcholinesterase. Salah satu penelitian menyebutkan aktifitas Acetylchoiinesterase yang tidak normal ditemukan pada usia kurang dari 3 bulan, meskipun demikian hasil negatif pada bayi kurang dari 3 minggu tidak menyingkirkan diagnosa penyakit Hirschsprung. Selain itu adanya kenaikan

aktivitas enzim *Acetylcholinesterase* juga bisa didapatkan pada kasus intestinal neuronal dysplasia (IND) dimana baik umur yang masih muda maupun kelainan IND mempunyai karakteristik yang sama yaitu ganglionnya yang masih imatur. Pada kasus kasus yang demikian pemeriksaan tambahan dengan pengecatan Lactic Dehydrokinase (LDH) dan Nitroxide Synthase (NOS) dikatakan bisa membantu (Blisard., 1986; Meier-Ruge, 2005)

Persiapan pulasan *Acetylcholinesterase* menurut Karnovsky dan Roots

1. Bahan medium *Acetylcholinesterase* disiapkan dan disimpan dalam 2 medium yaitu medium A dan B, sebelum digunakan kedua medium dicairkan dan dicampur.
2. Diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37⁰C
3. Jaringan parasimpatis dari segmen aganglionik mukosa atau muskularis mukosa akan menunjukkan peningkatan aktifitas.

Tabel 1: Bahan bahan reagen Acetylcholinesterase

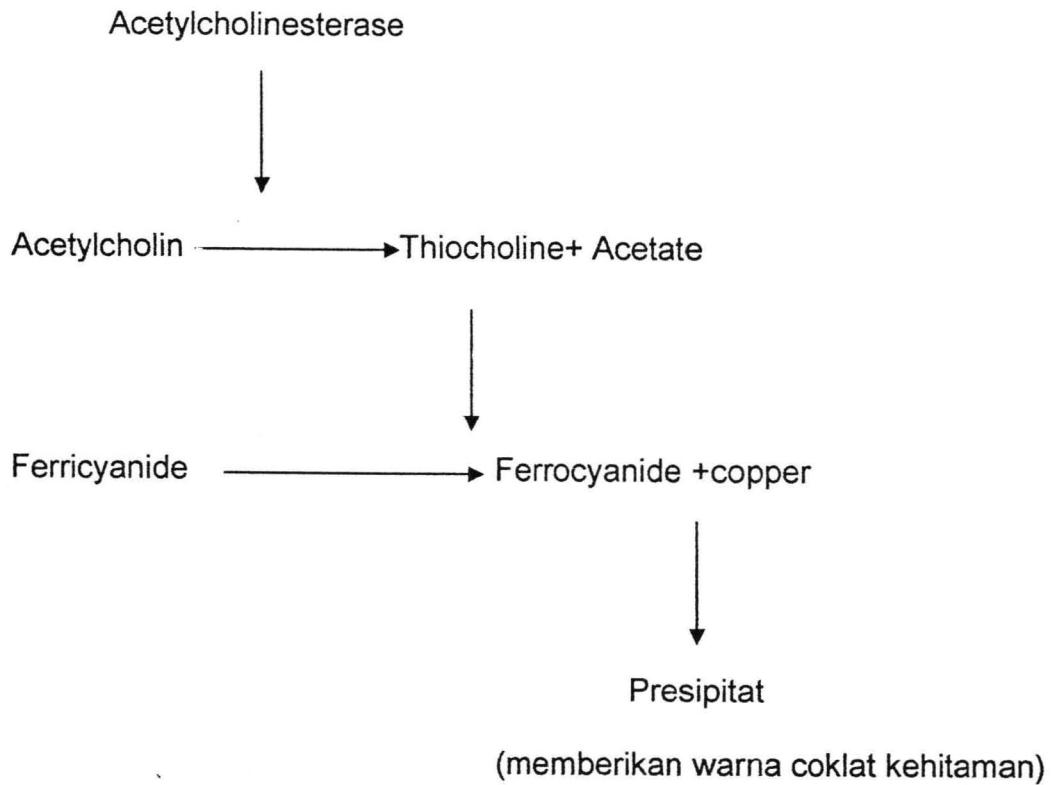
Media inkubasi A	100 ml	1.000 ml	2.000 ml
Sodium acetat 3 H ₂ O	0.514 g	5.14 g	10.28 g
Trisodium citrate 2 H ₂ O	0.143 g	1.43 g	2.86 g
Copper sulfate 5H ₂ O	0.075 g	0.75 g	1.50 g
Acetylthiocholine iodide	0.050 g	0.75 g	1.00 g
Distilled water	90 ml	900 ml	1.800 ml
Iso-OMPA(tetraisopropylpyro phosphamide, Sigma, inhibitor of non spesific esterase)	0.003 g	0.03 g	0.06 g
The medium must be adjusted to a pH of 5.5-5.6 with concentrated acetic acid			

Incubation medium B			
Potassium ferricyanide	0.016 g	0.165 g	0.33 g
Distilled water	10 ml	100 ml	200 ml

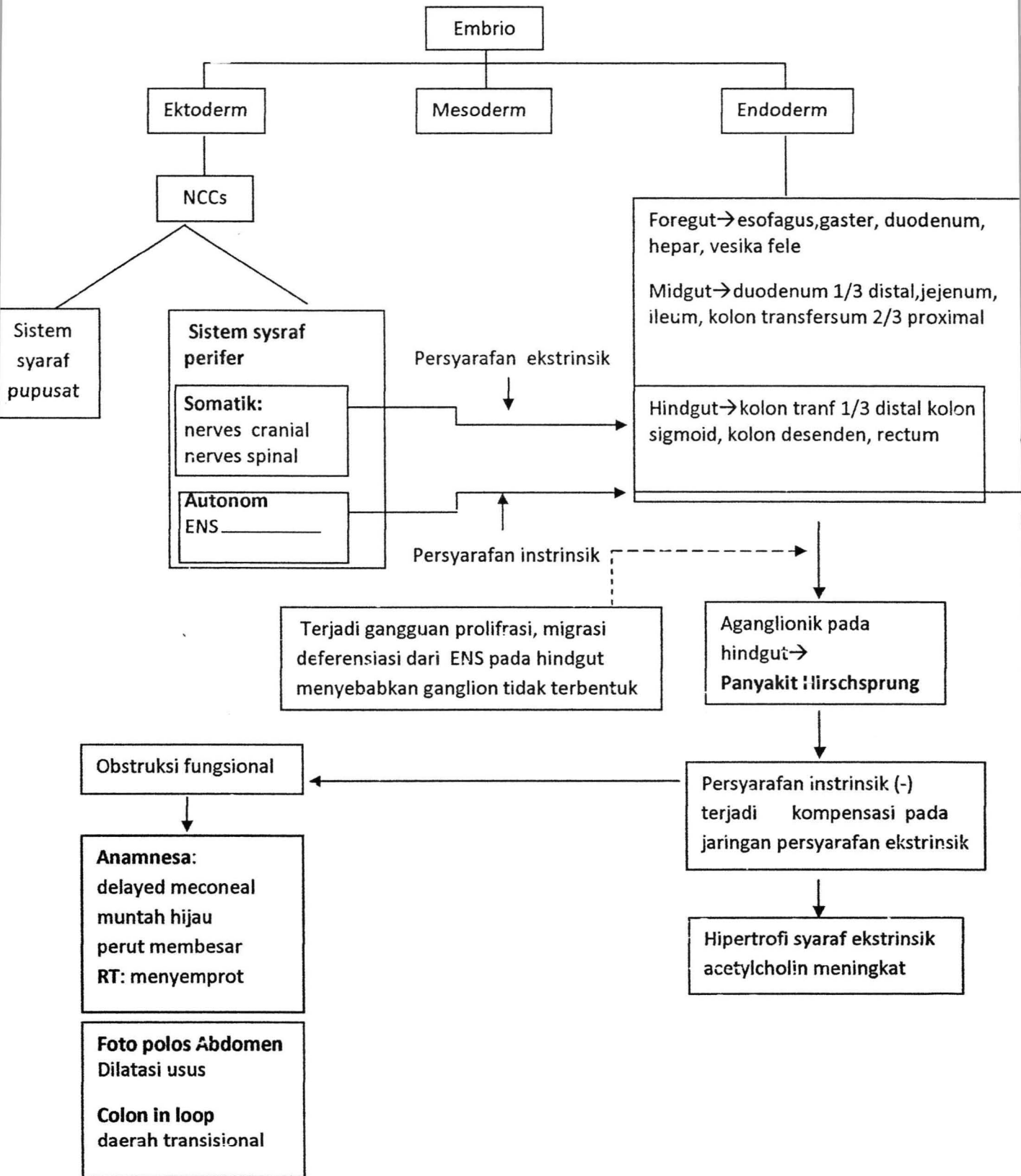
Sumber: Meier-Ruge A William, Bruder Elisabeth. Pathology of Cronic Constipation in pediatric and adult Coloproctology. Paris. Karger, 2005.

Prinsip yang mendasari reaksi enzimatik pada pulasan histokimia Acetylcholinesterase berdasarkan tehnik Karnowsky dan Roots adalah reaksi yang menggunakan Acetylthiocholine sebagai *substrate* Acetylcholinesterase yaitu acetylcholin bereaksi dengan Acetylcholinesterase menghasilkan thiocholin, thiocholine ini akan mereduksi ferricyanide menjadi ferrocyanide

yang akan berpresipitate sebagai copper ferrocyanide dan memberikan warna coklat gelap pada pulasan histokimia (Moore, 2005).



2.5 Kerangka Teori

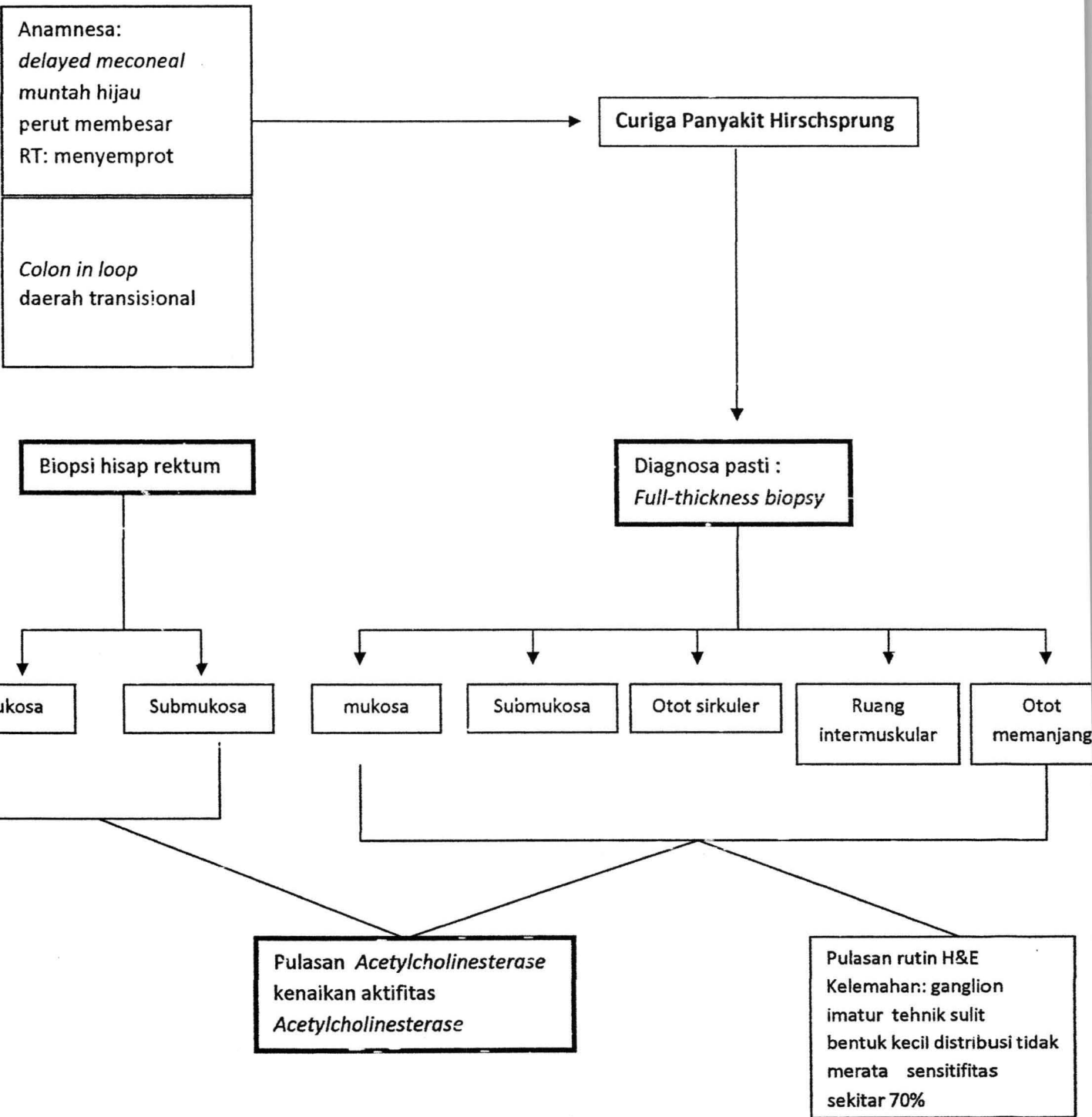


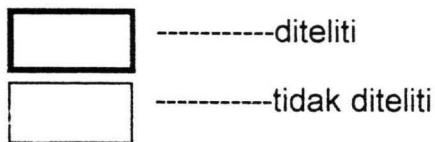


BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual





Pasien dengan keluhan terlambat keluarnya mekonium lebih dari 24 jam, muntah berwarna hijau, perut membesar dan pada pemeriksaan colok dubur didapatkan adanya buang air besar yang menyembrot, keluhan keluhan ini mengarah kesuatu kecurigaan pasien dengan penyakit Hirschsprung. Selanjutnya pasien akan dilakukan pemeriksaan radiologis rutin yaitu foto polos abdomen, bila pada pemeriksann rutin ini didapatkan gambaran dilatasi usus, maka pasien selanjutnya dilakukan pemeriksann *colon in loop* dengan menggunakan kontras, pada pemeriksann ini akan diukur *rectosigmoid index* apabila kurang dari satu maka kecurigaan suatu penyakit Hirschsprung semakin besar. Diagnosa pasti penyakit ini adalah dengan pemeriksann *full-thickness biopsy*, pada pemeriksann *full-thickness biopsy* akan diambil seluruh lapisan dinding kolon yang terdiri dari mukosa, submukosa, lapisan otot *sirkuler*, ruang antar lapisan otot tempat ganglion *aurbach* berada dan sampai ke lapisan otot *longitudinal*. Pemeriksann rutin untuk melihat ganglion dengan pulasan *hematoxilin eosin* memiliki banyak kelemahan, diantaranya adalah ganglion pada submukosa kecil kecil, *imatur* dan jumlahnya jarang serta distribusinya yang tidak merata. Pulasan dengan histokimia *Acetylcholinesterase* dipakai sebagai baku emas penyakit ini, pada pemeriksann ini akan dilihat aktifitas *enzim acetylcholinesterase*, yang pada penyakit ini dikatakan meningkat. Pemeriksann biopsi hisap rektum yang dilanjutkan dengan pulasan AChE disebut bisa memberikan hasil yang hampir

sama dengan *full-thickness biopsy*, pemeriksaan ini mengambil bahan hanya dari mukosa dan submukosa saja yang pada pasien dengan penyakit Hirschsprung dikatakan kenaikan aktifitas *Acetylcholinesterase* bisa sampai ke mukosa *colon*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain penelitian

Penelitian ini merupakan *study cross sectional* untuk menilai hubungan antara biopsi hisap rektum dengan *full-thickness biopsy* untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung.

4.2 Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Instalasi Rawat Darurat dan poliklinik anak dan bedah RSUD Dr. Soetomo Surabaya, sementara itu pemeriksaan radiologis dilakukan di Departemen Radiologi RSUD dr Soetomo, biopsi hisap rektum dan *full-thickness biopsy* dilanjutkan pemeriksaan *Acetylcholinesterase* dilakukan di Gedung Bedah Pusat Terpadu dan departemen Patologi Anatomi Gedung Diagnostik Center RSUD dr Soetomo Surabaya.

4.3 Populasi Penelitian

Populasi penelitian adalah pasien yang dicurigai dengan penyakit Hirschsprung yang dirawat di bangsal anak, bangsal neonatologi anak dan bagian bedah Departemen Ilmu Kesehatan Anak dan Departemen Ilmu Kesehatan Bedah Anak RSUD Dr. Soetomo Surabaya.



4.4 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah pasien yang dicurigai dengan penyakit Hirschsprung pada RSUD Dr. Soetomo, memenuhi kriteria sampel mulai bulan April 2015 sampai bulan Agustus 2015

4.4.1 Besar sampel

Besar sampel adalah total sampel penelitian curiga penyakit Hirschsprung di RSUD Dr. Soetomo, mulai bulan April 2015 sampai bulan Agustus 2015.

4.4.2 Kriteria sampel

4.4.2.1 Kriteria Inklusi

Bayi dan anak dengan curiga Hirschsprung

4.4.2.2 Kriteria eksklusi

1. Anak dengan kecurigaan suatu Hirschsprung tetapi tidak mendapat persetujuan orangtuanya..
2. Anak dengan kecurigaan Hirschsprung dengan kelainan kongenital yang berat.
3. Anak dengan kecurigaan hirsprungs yang meninggal dunia sebelum dilakukan biopsi hisap rektum dan *full-thickness biopsy*

4.4.2.3 Kriteria putus uji

Bayi atau anak yang hilang pengamatan sebelum masa pengamatan berakhir.

4.5 Variabel penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Biopsi hisap rektum dengan *Acetylcholinesterase*

4.5.2 Variabel Tergantung

Full-thickness biopsi dengan *Acetylcholinesterase*

4.6 Definisi Operasional

1. Curiga Hirschsprung adalah bayi atau anak yang datang dengan keluhan *delayed meconial*, muntah hijau atau perut membesar.
2. Penyakit Hirschsprung adalah penyakit sebagai suatu penyakit yang ditandai dengan tidak adanya ganglion sel pada pleksus *myentericus* dan submukosa usus bagian bawah mulai dari spingter interna sampai ke proksimal, dengan panjang bervariasi. Baku emas untuk penyakit ini adalah tidak ditemukannya ganglion atau adanya hipertropi saraf kholinergik parasimpatis.
3. Biopsi Hisap rektum: adalah biopsi yang dilakukan dengan menggunakan alat biopsi hisap rektum merk SBT-100, diambil pada 3 tempat dengan jarak antara 3 cm, 4 cm dan 5 cm dari linea dentata, mengambil jaringan mukosa dan submukosa dari kolon. Biopsi hisap rektum dilakukan oleh dr Ariandi SpB. SpBA, selanjutnya dilakukan pulasan histokimia AChE yang dilakukan oleh Dr.dr.Willy Sandhika SpPA(K) yang hasilnya dikatakan positif jika terdapat kenaikan aktifitas enzim AChE bila pada pulasan memberikan warna coklat kehitaman.

4. *Full-thickness biopsy*: biopsi yang dilakukan simultan dengan biopsi hisap rektum dan dilakukan pembedahan, dengan mengambil jaringan sampai pada otot melintang usus besar, dilakukan pada 3 tempat yaitu bagian usus yang mengecil, daerah transisi dan dan bagian usus yang mengalami dilatasi. *Full-thickness biopsy* dilakukan oleh dr Ariandi SpB. SpBA, selanjutnya dilakukan pulasan histokimia AChE yang yang dilakukan oleh Dr.dr. Willy Sandhika SpPA(K) yang hasilnya dikatakan positif jika terdapat kenaikan aktifitas enzim AChE bila pada pulasan memberikan warna coklat kehitaman.
5. Usia datang pertama kali ke RS adalah usia saat pasien datang ke Rumah Sakit Dr Soetomo surabaya, dihitung dengan hari.
6. *Delay meconial* adalah terlambat keluarnya berak yang pertama dari bayi lebih dari 24 jam.
7. Muntah hijau adalah muntah / keluarnya cairan yang disertai dengan tenaga yang berwarna hijau
8. Panas adalah suhu tubuh yang diperiksa dengan termometer pada axilla, dikatagorikan panas bila suhu diatas $37,5^{\circ}\text{C}$
9. Buang air besar menyemprot adalah buang air besar yang disertai dengan tekanan pada saat pemeriksaan colok dubur.
10. *Dilatasi usus proximal* pada foto pclos abdomen adalah pembesaran atau pelebaran usus yang terlihat pada foto polos abdomen.
11. Laboratorium penunjang adalah pemeriksaan laboratorium yang dilakukan saat pasien datang ke Rumah sakit Dr Soetomo antara lain:

darah lengkap, Albumin. C-Reaktif Protein, Serum Elektrolit dan lain lain.

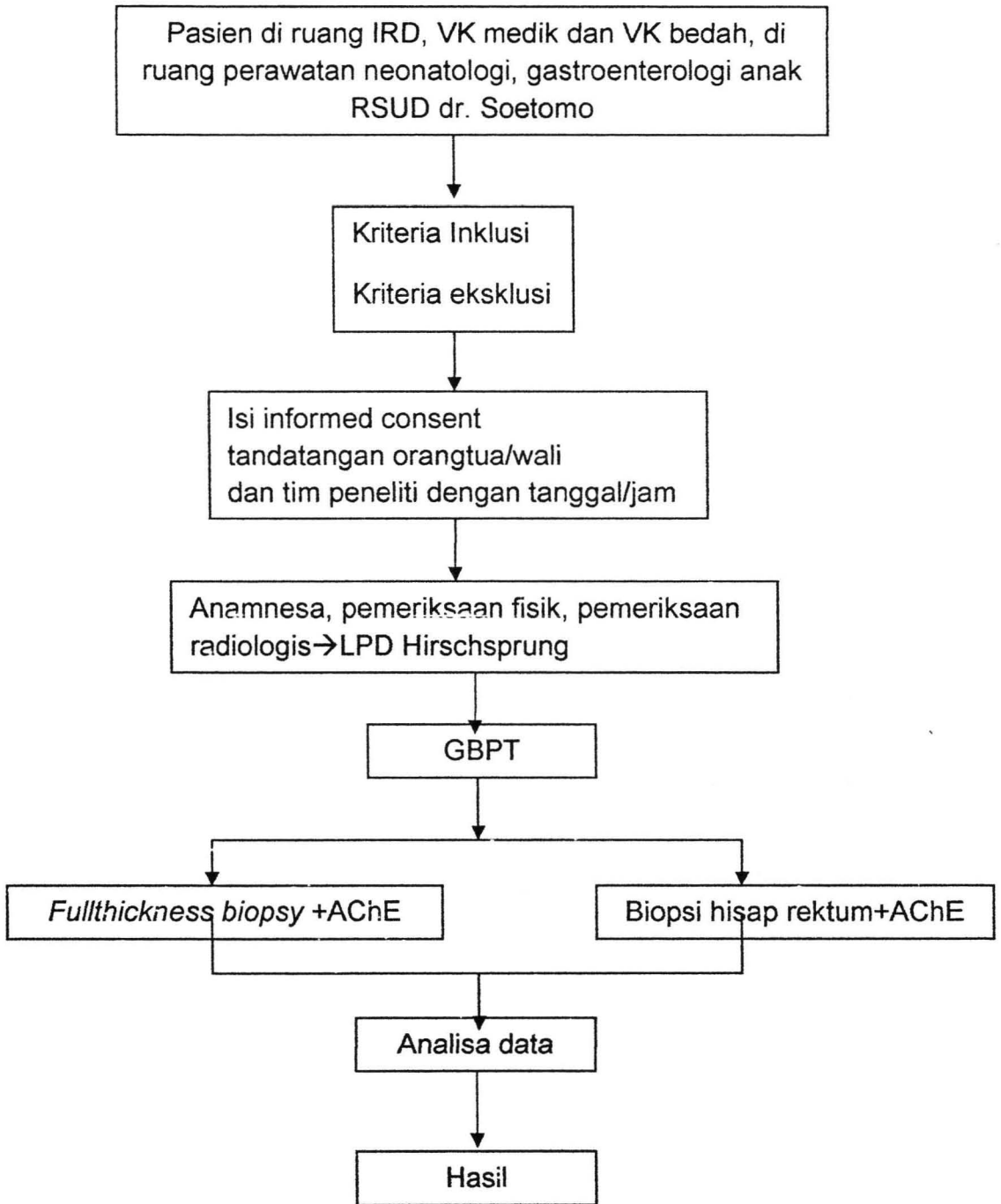
12. Pemeriksaan Radiologi adalah pemeriksaan penunjang Radiologi yang dilakukan saat pasien dirawat di Rumah Sakit Dr soetomo.
13. Diare adalah bertambahnya frekuensi buang air besar lebih dari 3 kali dalam 24 jam dengan konsistensi cair.

4.7 Cara kerja

1. Setiap anak yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak termasuk kriteria eksklusi diikutsertakan dalam penelitian setelah diberikan penjelasan tentang tujuan penelitian, prosedur dan mendapat persetujuan dari orang tuanya.
2. Dilakukan prosedur pemeriksaan radiologi foto polos abdomen di IRD atau di GDC
3. Dilakukan prosedur pemeriksaan radiologi *colon in loop* di GDC
4. Pasien dilakukan general anaestesi sebelum dilakukan tindakan biopsi hisap rektum
5. Bahan diambil dengan alat hisap dan biopsi masing masing di 3 tempat
6. Hasil atau bahan dari pemeriksaan biopsi hisap rektum dilakukan pemotongan dengan *cryostat*
7. Slide yang sudah dilakukan pemotongan dikirim ke bagian Patologi Anatomi GDC untuk lakukan pewarnaan dengan *Acetylcholinesterase*
8. Bahan medium *Acetylcholinesterase* (2 medium) disiapkan dan dicairkan, dicampur

9. Diinkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C
10. Jaringan *parasimpatis* dari *segmen aganglionik* mukosa atau muskularis mukosa akan menunjukkan peningkatan aktifitas (memberikan warna coklat-hitam)
11. Data di kumpulkan dan di analisis.

4.8 Alur penelitian



4.9 Pengumpulan dan Penyajian data

4.9.1 Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan lembar pengumpulan data (LPD) khusus

4.9.2 Penyajian Data

Data hasil penelitian di sajikan dalam bentuk:

- a. Tabulasi
- b. Diagram
- c. Teks atau tulisan

4.10 Analisa Statistik

Analisis statistik dilakukan dengan:

1. Analisis Deskriptif
2. Analisis Inferensial
 - a. Uji diagnostik: meliputi sensitivitas, spesifisitas, nilai ramal positive, nilai ramal negative, likelihoodratio positif, dan likelihood ratio negatif
 - b. Asosiasi Kappa
 - c. Uji Mc Nemar.



BAB 5

HASIL DAN ANALISIS

Studi diagnostik pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulsan histokimia *Acetylcholinesterase* untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung pada anak telah dilakukan. *Full-thickness biopsy* dengan pulsan histokimia *Acetylcholinesterase* digunakan sebagai baku emas dalam penelitian ini. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret sampai bulan Agustus 2015 dan keseluruhan didapatkan 13 pasien anak yang diduga mengalami penyakit Hirschsprung, 3 pasien dilakukan eksklusi karena tidak dilakukan pemeriksaan *full-thickness biopsy* dan pada saat dilakukan pembedahan didapatkan pasien dengan penyakit lain dan bukan dengan penyakit Hirschsprung.

Pemeriksaan biopsi hisap rektum ini menggunakan alat biopsi hisap rektum SBT-100 yang diproduksi Australia.



Gambar 5.1 Alat biopsi hisap rektum SBT-100

5.1 Karakteristik subyek penelitian

Sebanyak 10 pasien memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, sebagian besar laki laki yaitu 8 anak dan 2 anak perempuan. Berdasarkan usia saat masuk rumah sakit paling kecil usia 14 hari dan usia yang paling besar saat dilakukan operasi adalah 2155 hari (6 bulan 11 tahun). Sebagian besar subyek penelitian lahir dengan cukup bulan sebanyak 8 anak, riwayat dengan ibu mengalami *pre eklamsi/ eklamsi* sebanyak 1 anak, riwayat ibu mengalami ketuban pecah dini sebanyak 2. Berdasarkan hasil pemeriksaan penunjang dari 10 pasien hanya ada 2 pasien yang mempunyai haemoglobin tidak normal berdasarkan Haemoglobin normal anak seusianya saat datang ke RSDS, ke 2 pasien yang mempunyai kadar Hb dibawah normal ini selanjutnya dilakukan kultur darah dan hasilnya terbukti dengan sepsis, untuk pemeriksaan diagnostik menunggu kondisi pasien stabil. Salah satu dari pasien ini pernah di rawat di ruang anak dan dipulangkan karena pada saat observasi klinis pasien meragukan suatu penyakit Hirschsprung dan pasien kembali lagi 2 minggu kemudian karena perut membesar dan dilakukan operasi dari hasil pemeriksaan *full-thickness biopsy* memang terjadi peningkatan aktifitas *Acetylcholinesterase*. Pemeriksaan penunjang foto polos abdomen 6 pasien didapatkan hasil foto polos pada abdomennya yang hasilnya menunjukkan bayangan gas usus yang terdistribusi minimal di cavum pelvis, pada semua pasien ini selanjutnya dilakukan colon in loop dengan hasil semuanya menyokong suatu gambaran penyakit Hirschsprung. 9 dari 10 pasien ini dilakukan operasi *transanal endorektal pullthrough* dan 1

pasien dilakukan *end sigmoidostomi* dan direncanakan untuk operasi definitif 6 bulan lagi. Semua pasien ini pulang dalam kondisi hidup.

5.2 Gambaran Klinis subyek penelitian

Tabel 5.1 menunjukkan gambaran karakteristik klinis subyek penelitian. Sedangkan keluhan pasien mengalami keterlambatan dalam keluarnya buang air besar yang pertama kali sebanyak 9, mengalami muntah hijau sebanyak 4, keluhan perut membesar/ distended pada semua sampel, keluhan subyek mengalami panas saat di bawa ke Rumah sakit hanya didapatkan pada 2 anak, hanya 3 pasien yang mengeluhkan terjadi diare dari 10 pasien dan tidak ada pasien yang menderita kelainan kongenital lain. Albumin merupakan salah satu pemeriksaan penunjang yang selalu dilakukan pada 10 pasien ini dan hasilnya semuanya mempunyai albumin diatas 3 mg/L. Hanya 5 pasien yang diperiksa C-reaktif protein (CRP) pada pemeriksaan awal saat pasien masuk rumah sakit, 2 pasien dengan CRP diatas 10.

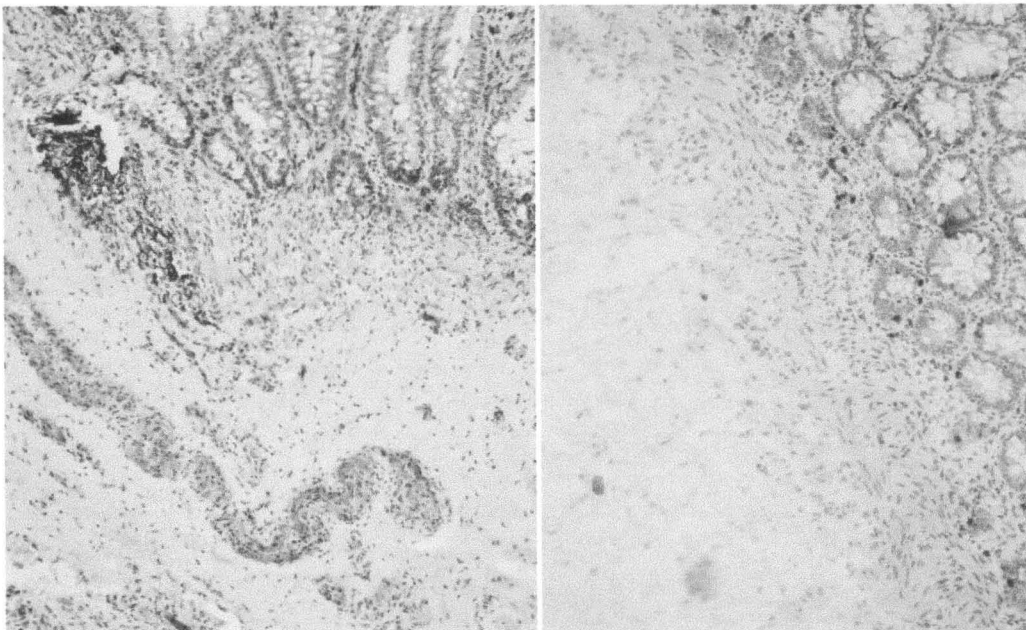
Tabel 5.1 Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik Subyek	Jumlah(n=10)
Jenis Kelamin	
Laki laki	8
Perempuan	2
Umur	
<3 bulan	7
>3 bulan	3
Delayed meconal	9
Muntah hijau	4
Perut distended	8
Panas	2
Kelainan kongenital lain	0
Diare	3
Albumin	
<3 mg/dL	0
>3 mg/dL	10

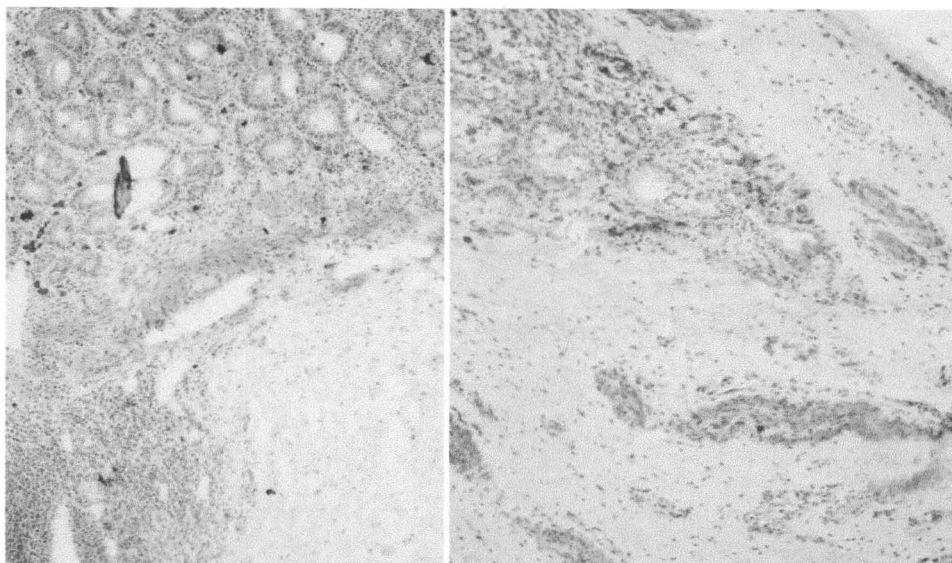
5.3 Gambaran histokimia Acetylcholinesterase

Hasil pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* dengan biopsi dikatakan positif apabila didapatkan kenaikan aktivitas enzim *Acetylcholinesterase* yang pada pulasan tampak terlihat warna coklat. Perubahan warna ini didasarkan pada prinsip reaksi enzimatik yang terjadi pada *Acetylthiocholine* sebagai *substrate Acetylcholinesterase* yaitu *acetylcholin* bereaksi dengan *Acetylcholinesterase* menghasilkan *thiocholin*, *thiocholine* ini akan mereduksi *ferricyanide* menjadi *ferrocyanide* yang akan berpresipitate sebagai *copper ferrocyanide* dan memberikan warna coklat gelap pada pulasan histokimia. Hasil pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* dengan biopsi hisap rektum yang positif apabila didapatkan kenaikan enzim *Acetylcholinesterase* atau bila dalam pulasan terlihat adanya warna coklat yang meningkat (Moore, 2005).

Pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* dengan biopsi hisap rektum yang positif apabila didapatkan kenaikan enzim *Acetylcholinesterase* atau bila dalam pulasan terlihat adanya warna coklat yang meningkat seperti terlihat pada gambar 5.1 a, sedangkan *Acetylcholinesterase* pada gambar 5.b terdapat aktifitas enzim *Acetylcholinesterase* tetapi tidak terjadi peningkatan sehingga pada pulasan *Acetylcholinesterase* juga tidak terlihat kenaikan aktifitasnya. Begitu juga dengan *full-thickness biopsy* pada gambar 5.2 a. Tampak terlihat adanya peningkatan aktifitas *Acetylcholinesterase* pada daerah mukosa dan submukosa colon sedangkan pada gambar 5.2 b tidak terlihat adanya peningkatan aktifitas *Acetylcholinesterase* baik pada daerah mukosa dan submukosa kolon.



Gambar 5.1 Gambaran histokimia biopsi hisap rektum;(a) tampak peningkatan aktifitas enzim *Acetylcholinesterase* di mukosa dan muskularis mukosa colon yang *aganglionik*, dengan pembesaran mikroskop 400x (b) aktifitas enzim *Acetylcholinesterase* mukosa dan submukosa colon normal



Gambar 5.2 Gambaran *fullthickness biopsy*; (a) peningkatan aktifitas enzim *Acetylcholinesterase* di mukosa dan muskularis mukosa colon dengan pembesaran mikroskop 400x, (b) tidak ada peningkatan aktifitas enzim *Acetylcholinesterase* pada mukosa dan muskularis mukosa.

Tabel 6.3 menunjukkan crosstabulasi biopsi hisap rektum pada 3 cm, 4 cm dan 5 cm dengan hasil pulasan *Acetylcholinesterase*, tampak pada 3 cm didapatkan pulasan *Acetylcholinesterase* positif ada 4 sampel, 4 cm ada 1 sampel dan 5 cm juga 1 sampel. Hasil negatif *Acetylcholinesterase* pada cm ke-3 *proximal* dari *linea dentata* ada 6 sampel, sedangkan pada cm ke-4 dan ke-5 *proximal* dari *linea dentata* masing masing 9 sampel.

Tabel 5.3 Crosstabulasi tempat pengambilan biopsi hisap rektum dengan hasil pemeriksaan histokimia *Acetylcholinesterase*

		Biopsi Hisap rektum			Total
		3 cm	4 cm	5 cm	
Acetylcholinesterase	positif	4	1	1	7
	negatif	6	9	9	24
Total		10	10	10	30

Tabel 5.4 menunjukkan crosstabulasi fullthickness biopsy pada daerah yang aganglionik, zona transisi dan daerah colon yang mengalami dilatasi. Pada daerah aganglionik didapatkan hasil 5 sampel positif dan 5 sampel negatif, sedangkan pada daerah transisi didapatkan 7 hasil negatif dan 3 masih positif sedangkan untuk daerah yang seharusnya terdapat ganglion masih didapatkan pulasan positif pada 1 sampel dan 9 sampel menunjukkan hasil yang negatif.

Tabel 5.4 Crosstabulasi *Fullthickness biopsy* dengan hasil pemeriksaan histokimia *Acetylcholinesterase*

		<i>Fullthickness Biopsy</i>			Total
		aganglionik	Zona transisi	ganglionik	
<i>Acetylcholinesterase</i>	positif	5	3	1	9
	negatif	5	7	9	21
Total		10	10	10	30

Pada tabel 5.5 menggambarkan hasil pemeriksaan biopsi hisap rektum dan *full-thickness biopsy* yang dilakukan pulasan *Acetylcholinesterase*. Dari tabel ini terlihat ada 2 pasien yang tidak sama antara hasil biopsi hisap rektum dengan hasil *full-thickness biopsy*. Satu pasien dengan hasil biopsi hisap rektum yang positif tetapi pada *full-thickness biopsy* nya didapatkan hasil negatif dan ada satu pasien dengan hasil biopsi rektum hasilnya negatif tetapi hasil *full-thickness biopsy* nya positif.

Tabel 5.5 Hasil pemeriksaan *Acetylcholinesterase* pada biopsi hisap rektum dan *full-thickness biopsy*

no	Nama	Hasil biopsi hisap rektum dengan <i>Acetylcholinesterase</i>	<i>Full-thickness biopsy</i> dengan <i>Acetylcholinesterase</i>	Klinis
1	MD	Negatif	Negatif	Hirschsprung
2	BT	Negatif	Negatif	Hirschsprung
3	Si	Positif	Positif	Hirschsprung
4	Aj	Negatif	Positif	Hirschsprung
5	KH	Positif	Negatif	Hirschsprung
6	MR	Positif	Positif	Hirschsprung
7	SK	Positif	Positif	Hirschsprung
8	ME	Positif	Positif	Hirschsprung
9	HE	Positif	Positif	Hirschsprung
10	EA	Positif	Positif	Hirschsprung

Tabel 5.6 menunjukkan hasil diagnostik biopsi hisap rektum dengan pulasan *Acetylcholinesterase* untuk mendiagnosis suatu penyakit

Hirschsprung.

Tabel 5.6: Tabel 2x2 hasil pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* antara biopsi hisap rektum dengan *fullthickness biopsy*

		Fullthickness biopsy		Total
		Positif	Negatif	
Biopsi hisap rektum	Positif	6	1	7
	Negatif	1	2	3
Total		7	3	10

Akurasi pada sebuah penelitian diagnostik meliputi sensitifitas, spesifitas *positive predictive value* (PPV), *negative predictive value* (NPV)

dan *likelihood ratio* (LR). Suatu uji diagnostik yang ideal adalah uji yang memberikan hasil positif pada semua subyek yang sakit dan memberikan hasil negatif pada semua subyek yang tidak sakit. Pada penelitian ini didapatkan hasil nilai sensitifitas yang cukup tinggi yaitu sebesar 85,7% dengan nilai spesifisitas 66,7% .Nilai positif predictive value sebesar 85% dan nilai *negative predictive value* didapatkan nilai 66,7% . *Positive likelihood ratio* sebesar 2,57. Sedangkan *negative likelihood ratio* sebesar 0.21. Nilai uji kesesuaian *kappa* 0,29 sedangkan nilai uji Mc nemar sebesar 1

Tabel 5.7 akurasi diagnostik biopsi hisap rektum dengan pulsan hisetokimia Acetylcholinesterase

Variabel	Nilai	95% <i>confidence interval</i>
Sensitivitas	85,7 %	60-100
Spesifisitas	66,7 %	13-100
Nilai prediksi positif	85 %	60-100
Nilai prediksi negatif	66,7%	13-100
Likelihood ratio positif	2,57	0,5-13,11
Likelihood ratio negatif	0,21	0,03-1,56
Uji kappa	<i>p</i> 0,29	
Uji McNemar	1	

BAB 6

PEMBAHASAN



Penelitian ini menunjukkan bahwa pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* pada pasien yang diduga dengan penyakit Hirschsprung mempunyai akurasi yang cukup tinggi dalam mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* digunakan untuk melihat aktifitas enzim *Acetylcholinesterase* yang pada penderita dengan Hirschsprung dimana pada penderita ini terjadi peningkatan jaringan *syaraf kolinergik* pada daerah intermuskuler dan segmen aganglionik, serabut syaraf ini terlihat lebih tebal dan berhubungan dengan saraf *ekstrinsik preganglionik parasimpatis*. Adanya rangsangan terus menerus akan menyebabkan terjadinya pelepasan *Acetylcholin* dari ujung ujung syaraf dimana dan terjadi penumpukan *Acetylcholin* ini pada *lamina propria, muscularis mukosa* bahkan pada otot sirkuler yang pada pemeriksaan dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* akan menunjukkan peningkatan aktifitas (Meier-Ruge, 2005; Puri, 2008; Anglade, 2010).

Berdasarkan jenis kelamin, pada penelitian ini didapatkan sampel laki laki sebanyak 8 anak dan perempuan sebanyak 2 anak. Penelitian ini ini sesuai dengan penelitian yang dilaporkan Izadi dkk yang melaporkan 58 pasien dengan penyakit Hirschsprung yang didominasi oleh laki laki 67% dan wanita 33%, sedangkan di Tanzania seperti yang dilaporkan Mabula dari 116 kasus penyakit Hirschsprung yang didominasi oleh laki

laki dengan perbandingan 3,6:1(Mabula, 2014). Sementara itu di Barbados dalam 16 tahun penelitiannya Vincent melaporkan 27 kasus dengan Hirschsprung dengan rasio laki laki dibandingkan dengan perempuan sebesar 3:1(Vincent, 2009). Rahman dan kawan kawan melaporkan dalam 4 tahun jumlah pasien yang datang dengan diagnosis Hirschsprung sebanyak 116 kasus dengan laki laki sebesar 143 dan perempuan 73 atau rasio 1,9:1 (Rahman., 2010), di Nigeria seperti yang dilaporkan oleh Chirdan pada 8 tahun di dapatkan kasus sebanyak 78 perbandingan laki laki di bandingka perempuan sebesar 2.8: 1(Chirdan, 2006). Juga dilaporkan oleh Fouzia di Kuwait dimana dalam 10 tahun dilaporkan ada 102 kasus dengan perbandingan antara laki laki dan perempuan adalah 5,8 :1(Fouzia, 2006). Keterkaitan jenis kelamin dengan kejadian Hirschsprung ini diduga berhubungan dengan gen resesif X(Bardner, 1990).

Dari usia kehamilan saat bayi dilahirkan sebanyak 8 bayi dilahirkan dengan usia kehamilan cukup bulan dan hanya ada 2 bayi yang dilahirkan dengan usia kehamilan kurang dari 37 minggu. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan pada penelitian Baxter dkk pada cohort retrospektif selama tahun 2002 sampai tahun 2012 didapatkan 24(19%) bayi dengan penyakit Hirschsprung dilahirkan kurang bulan dan 105(81%) bayi dilahirkan cukup bulan. Sedangkan Nicole dkk melaporkan prevalensi bayi yang dilahirkan kurang bulan dengan penyakit Hirschsprung sebanyak 5.3%(Nicole, 2013). Duess dkk melakukan sistematik review dari 26 publikasi pada tahun 1964 sampai tahun 2013 dilaporkan prevalensi bayi

prematur dengan penyakit Hirschsprung sebesar 6% dengan rincian selama tahun 1964 sampai 1999 dilaporkan prevalensi bayi premature dengan Hirschsprung berkisar antara 1,7%-9.2% atau prevalensi secara keseluruhan sebesar 5% dan selama tahun 2000 sampai 2013 dilaporkan prevalensi bayi premature dengan Hirschsprung berkisar antara 4%-19% atau prevalensi secara keseluruhan sebesar 14%(Duess, 2-14)

Didapatkan 1 bayi yang dilahirkan oleh ibu dengan preeklamsia pada saat dilahirkan. Ibu dengan riwayat preeklamsia atau eklamsia ditanyakan pada penelitian ini untuk mencari penyebab lain terjadinya keterlambatan keluarnya mekonium. Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa terdapat hubungan antara keterlambatan keluarnya mekonium dengan ibu yang mendapatkan terapi MgSO₄ atau ibu dengan eklamsia atau preeklamsia (Kwon, 2015). Bayi dari ibu yang mendapatkan terapi MgSO₄ saat hamil trimester yang ke 3 mempunyai kadar Magnesium yang tinggi karena Mg akan melewati tali pusat, dan adanya hipermagnesium ini yang akan mendepresi langsung sel otot polos di usus sehingga terjadi hypomotility yang akan berakibat terlambat keluarnya mekonium pada bayi baru lahir(Gulcan, 2006). Pada pasien ini didapatkan hasil *full-thickness biopsy* nya positif, sehingga dapat disimpulkan bahwa gejala klinis terlambat keluarnya mekonium bukan disebabkan karena ibu pasien yang mendapatkan terapi MgSO₄ tetapi lebih karena penyakit pasiennya itu sendiri.

Adanya keterlambatan keluarnya mekonium didapatkan pada 9 (90%) bayi. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Chirdan pada

penelitiannya di bedah anak Nigeria selama 9 tahun menemukan gambaran dari 31 neonatus, 87% datang dengan keluhan mekonium yang terlambat (Chirdan, 2006). Nasir menemukan lebih rendah lagi, keluhan terlambat keluarnya mekonium 10 anak (47.9%). Hasil yang berbeda dilaporkan oleh Izadi di Iran, yang melaporkan bahwa terlambat keluarnya mekonium hanya didapatkan pada 10 pasien anak (17,5%)

Muntah hijau didapatkan hanya pada 4 pasien (40%) sedangkan peneliti lain melaporkan muntah hijau didapatkan pada 6 (22%) pasien dari 27 pasien yang ikut serta dalam penelitian yang dilakukan oleh Vincent, 2008. Chirdan pada tahun 2006 melaporkan keluhan muntah kehijauan dialami oleh 27% anak dengan penyakit Hirschsprung.

Abdominal distended dikeluhkan oleh sebagian besar pasien 8 (80%). Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Chirdan dkk di Nigeria pada 31 Neonatus didapatkan keluhan perut membesar/*abdominal distended* sebesar 71%, temuan yang lebih besar didapatkan oleh Nasir dkk dari 10 pasien yang ditelitinya semuanya mengeluhkan adanya pembesaran perut/*abdominal distended* 100%.

Hanya ada 3(30%) pasien yang mengeluhkan panas pada saat pasien datang ke Rumah Sakit. Chirdan dkk di Nigeria pada 31 Neonatus didapatkan keluhan panas pada 10% pasien

Pada penelitian ini juga dilakukan pemeriksaan fisik pasien untuk melihat mempunyai kelainan kongenital yang lain. Penyakit Hirschsprung

dikaitkan dengan kelainan kongenital yang lain seperti kelainan pada neurologi, kardiovaskuler, urologi bahkan kelainan gastrointestinal yang lain, Down syndrome dikatakan merupakan kelainan yang paling sering menyertai penyakit ini. Dari 10 sampel yang kami lakukan pemeriksaan tidak didapatkan pasien dengan kelainan kongenital yang lain. Pada penelitian yang dilakukan terdahulu dikatakan prevalensi Down syndrom pada pasien dengan penyakit Hirschsprung berkisar antara 10%-13%. Yin, 2012 menemukan prevalensi pasien Down Syndrom dengan penyakit Hirschsprung sebesar 13%. Sedangkan Kessman dan kawan kawan menyebutkan prevalensi Down syndrome dengan Penyakit Hirschsprung adalah sekitar 10%. Adanya hubungan dengan kelainan kongenital ini berkaitan dengan adanya kelainan genetik yang diduga merupakan penyebab terjadinya penyakit Hirschsprung itu sendiri(Kessmann, 2006 ;Yin, 2012)

Biopsi hisap rektum dilakukan pada 3 tempat yaitu berjarak 3 cm, 4 cm dan 5 cm diatas *linea dentata*, dilakukan dalam waktu 2 menit menggunakan alat biopsi hisap rektum dengan merk SBT-100. Tempat pengambilan bahan mukosa dan submukosa dengan biopsi hisap rektum ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Andrassy dan kawan kawan, dimana peneliti ini mengambil jaringan dengan alat biopsi hisap rektum pada 2 tempat yaitu 2,5 c, dan 3,5 cm diatas *linea dentata* (Andrassy, 1980). Penelitian yang dilakukan oleh Bagdzevicius melakukan biopsi hisap rektum dengan mengambil mukosa dan submukosa pada jarak 5 cm dan 3 cm diatas *linea dentata*. Sedangkan Puri menyarankan

pengambilan bahan untuk biopsi hisap rektum dilakukan pada 3 tempat yaitu berjarak 1 cm, 3-4 cm dan 6-8 cm *proximal* dari *linea dentata* dan harus dipastikan bahwa bahan yang terambil mengandung cukup jaringan mukosa dan submukosa untuk mendapatkan sampel yang adekuat (Puri, 2008). Pengambilan sampel biopsi hisap rektum pada ketiga tempat ini diharapkan bisa mendapatkan jaringan mukosa dan submukosa yang mengandung hipertrofi serabut syaraf kholinergik.

Pengambilan bahan untuk pemeriksaan *full-thickness biopsy* yang kita jadikan baku emas dilakukan pada 3 tempat yaitu 1 pada daerah kolon yang mengecil(aganglionosis), pengambilan yang ke-2 pada daerah transisional/ zona transisonal dan yang ke-3 adalah pada kolon yang mengalami dilatasi. *Full-thickness biopsy* ini diasumsikan sebagai daerah yang tidak berganglion, pada daerah yang zona transisi dan daerah yang dilatasi yang kita asumsikan sebagai bagian yang mengandung ganglion. Pengambilan bahan biopsi ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Puri pada tahun 2008 dimana peneliti mengambil 3 tempat untuk biopsi ini Dinding abdomen dibuka melalui insisi *Pfannenstiel*, tempat biopsi dipilih berdasarkan lokasi daerah transisional, pada kasus *rectosigmoid agangliosis*, 3 tempat biopsi diambil sepanjang permukaan anti mesenterika tanpa memasuki lumen, 1 biopsi dilakukan pada segmen usus yang mengecil, biopsi yang ke-2 diambil didaerah transisi, dan biopsi ke-3 dilakukan pada daerah yang membesar diatas daerah transisi (Puri, 2008). Sedangkan peneliti lainnya menyarankan pengambilan tempat

biopsi pada jaringan submukosa 2-5 cm di atas linea dentata, pengambilan biasanya pada 1-3 tempat (Dick, 1970).

Pada penelitian ini pada biopsi hisap rektum didapatkan 7 pasien dengan hasil pemeriksaan dengan pulasan *Acetylcholinesterase* menunjukkan gambaran yang positif, pulasan *Acetylcholinesterase* dikatakan positif jika terjadi peningkatan aktifitas AChE yang pada pewarnaan memberikan warna coklat gelap. Reaksi enzimatik ini menggunakan *Acetylthiocholine* sebagai *substrate Acetylcholinesterase* yaitu *acetylcholin* bereaksi dengan *Acetylcholinesterase* yang banyak didapatkan pada jaringan aganglionik menghasilkan *thiocholin*, *thiocholine* ini akan mereduksi *ferricyanide* menjadi *ferrocyanide* yang akan berpresipitate sebagai *copper ferrocyanide* dan memberikan warna coklat gelap pada pulasan histokimia (Moore, 2005).

Pada penelitian ini terdapat 8 dari 10 sampel yang hasil pemeriksaan biopsi hisap rektum sama/ sesuai dengan *full-thickness biopsy*. Sedangkan 2 sampel menunjukkan perbedaan antara dua metode pemeriksaan tersebut. Satu pasien dengan hasil biopsi hisap rektum yang positif tetapi pada *full-thickness biopsy* nya didapatkan hasil negatif dan ada satu pasien dengan hasil biopsi rektum hasilnya negatif tetapi hasil *full-thickness biopsy* nya positif. Pada kasus ini ketidaksesuaian dikarenakan karena masalah tehnik.

Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk melihat apakah biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* bisa

digunakan sebagai diagnostik alternatif untuk menegakkan diagnosis penyakit Hirschsprung pada anak. Hasil penelitian ini mendapatkan hasil sensitifitas 85.7%. Penelitian ini berbeda dengan Park yang mendapatkan hasil sensitifitas sebesar 92% (Park, 1992). Orno mendapatkan hasil sensitifitas sebesar 94% (Orno, 2014). Gugelmin mendapatkan sensitifitas yang lebih besar yaitu sebesar 95.5% (Gugelmin, 2005). Sedangkan Bagdzevicius di Lithuania dengan sampel 11 neonatus dan 29 bayi yang diduga dengan penyakit Hirschsprung hasil pada neonatus angka sensitifitas 40% sedangkan pada bayi hasil sensitifitas sangat tinggi yaitu 100%. Angka sensitifitas pada penelitian lebih rendah dibandingkan dengan penelitian penelitian yang dilakukan oleh penelitian sebelumnya karena jumlah sampel yang kecil.

Pada penelitian ini nilai spesifitasnya didapatkan nilai yang cukup yaitu 66.6%, artinya pasien yang tidak sakit dan terdeteksi benar tidak sakit cukup tinggi. Hasil ini tidak berbeda dengan Park yang mendapatkan hasil spesifitasnya 100% (Park., 1992). Orno mendapatkan spesifitas 100% (Orno, 2014). Gugelmin mendapatkan spesifitas yang lebih kecil spesifitas 50% (Gugelmin, 2005). Sedangkan Bagdzevicius di Lithuania dengan sampel 11 neonatus mendapatkan hasil spesifitas 100% sedangkan pada bayi yang lebih besar nilai spesifitas 88.8%. Angka spesifitas ini disebabkan karena sebagian besar sampel berusia kurang dari 3 bulan dimana pada usia kurang dari 3 bulan seperti yang dikatakan oleh Meier-Ruge maturitas dari ENS belum terbentuk dengan sempurna, meskipun demikian hasil negatif pada sampel yang kurang

dari 3 bulan tidak menyingkirkan diagnosa bukan penyakit Hirschsprung (Meier-Ruge, 2005).

Nilai positive predictive value (PPV) adalah prosentase dari mereka dengan hasil positive yang benar benar sakit yang pada penelitian ini didapatkan hasil 66.7% sedangkan nilai negative predictive value (NPV) yang digunakakn untuk menilai persentase dari mereka dengan hasil tes negatif yang benar benar tidak sakit pada penelitian ini didapatkan nilai 79.1%. Likelihood ratio menunjukkan berapa kali kemungkinan suatu hasil tes dijumpai pada orang yang menderita penyakit dibandingkan dengan orang yang normal yang pada penelitian ini *positive likelihood ratio* atau berapa besar pemeriksaan biopsi hisap rektum ini positif pada pasien yang dicurigai dengan Hirschsprung dibandingkan orang sehat sebesar 4,67. Sedangkan *negative likelihood ratio* atau berapa besar pemeriksaan biopsi hisap rektum ini memberikan hasil negatif pada pasien yang dicurigai dengan Hirschsprung dibandingkan orang sehat sebesar 0,61.

Penelitian diagnostik ini menunjukkan hasil yang baik dengan melihat perhitungan nilai sensitifitas, spesifisitas dan nilai *likelihood ratio* yang tinggi. Pada hasil penelitian didapatkan nilai sensitifitas 85,7%, spesifisitas 66,7% *positive likelihood ratio* 66,7% dan *negative likelihood ratio* 79.1%.

Pada penelitian ini, nilai uji *kappa* 0,29 yang artinya tidak didapatkan kesesuaian antara pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan *full-thickness biopsy* sedangkan nilai uji Mc nemar sebesar 1 yang artinya

tidak ada perbedaan baik menggunakan biopsi hisap rektum maupun dengan *full-thickness biopsy* untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung.

Pada penelitian ini didapatkan hasil 1 sampel dengan hasil positif pada *full-thicknes biopsy* tetapi pada biopsi hisap rektum hasilnya negatif, hasil ini pernah didapatkan oleh peneliti sebelumnya, perdarahan pada jaringan mukosa merupakan salah satu karakteristik suatu artefak yang dapat menyebabkan gambaran hasil positif palsu atau pada *haemorrhagic specimens*, ketidaksesuaian pada penelitian ini disebabkan permukaan sel darah merah mengandung konsentrasi *Acetylcholinesterase* yang tinggi, tetapi seharusnya artefak ini tidak boleh disalahartikan karena pada artefak tidak terdapat jaringan serabut syaraf. Selain itu adanya kenaikan aktifitas *enzym Acetylcholinesterase* juga bisa didapatkan pada kasus *intestinal neuronal dysplasia* (IND) dimana baik umur yang masih muda maupun kelainan IND mempunyai karakteristik yang sama yaitu ganglionnya yang masih imatur. Pada kasus kasus yang demikian pemeriksaan tambahan dengan pengecatan *Lactic Dehydrokinase* (LDH) dan *Nitroxide Synthase* (NOS) dikatakan bisa membantu (Blisard, 1986; Meier-Ruge, 2005)

Ketidakesuain pada hasil fullthickness biopsi dan biopsi hisap rektum juga didapatkan pada 1 sampel penelitian ini dimana pada hasil biopsi hisap rektum hasilnya positif tetapi pada fullthickness biopsi hasilnya negatif, hasil seperti ini bisa ditemukan pada pasien dengan usia yang sangat muda hal ini disebabkan karena imaturitas dari sistem *enzym Acetylcholinesterase*. Salah satu penelitan menyebutkan aktifitas

Acetylcholinesterase yang tidak normal ditemukan pada usia kurang dari 3 bulan, meskipun demikian hasil negatif pada bayi kurang dari 3 minggu tidak menyingkirkan diagnosa penyakit Hirschsprung. (Blisard, 1986; Meier-Ruge, 2005)

Penelitian ini diharapkan bisa memberikan solusi bagi klinisi untuk mempergunakan pemeriksaan biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* sebagai alternatif pemeriksaan untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung pada anak.

Keuntungan dari pemeriksaan biosi hisap rektum sebagai alat diagnostik adalah prosedurnya yang kurang invasif sehingga memudahkan pengambilan, dan bisa digunakan tanpa menggunakan anaestesi umum sehingga dapat mengurangi kecemasan dan ketakutan pada orangtua dan anak. Prosedur ini juga lebih mudah dan murah sehingga untuk pembiayaan lebih murah dan bisa mengurangi tindakan dpembedahan yang terlalu agresif.

Terdapat banyak keterbatasan pada penelitian ini, baik dalam hal subyek penelitian maupun tehnik pemeriksaan. Waktu yang kurang lama menjadi keterbatasan pada penelitian ini karena jumlah sampel dalam waktu 6 bulan hanya 13 pasien dan 3 pasien di keluarkan dari penelitian ini. Sedangkan dari segi tehnik, karena pemeriksaan dilakukan pada jaringan segar(*fresh tissue*) dan alat cryostat hanya bisa dipakai pada saat jam kerja saja sehingga tidak bisa digunakan pada saat keadaan darurat.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Biopsi hisap rektum dengan pulasan histokimia *Acetylcholinesterase* bisa digunakan sebagai alat diagnostik untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung

7.2 Saran

1. Diperlukan penelitian dengan sampel yang lebih besar dengan waktu yang lebih lama.
2. Biopsi hisap rektum disarankan dilakukan pada jarak 3 cm sampai 5 cm dari linea dentata dengan durasi penghisapan selama 2 menit.
3. Biopsi hisap rektum bisa dilakukan di ruang tindakan rawat jalan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrassy J Richard, Isaacs Hart, Weitzman J Jordan. 1981. Rectal suction biopsy for the diagnosis of Hirschsprung`s disease. *Ann surg* ,419-424.
- Anglade Philippe, Larabi-Godinot yamina, 2010. Historical landmarks in the histochemistry of the cholinergic synapse: persective for future researches. *Biomedical Research*, 1:1-12.
- Amiel J, Sproat-Ernison E, Garcia-Barcelo M, Lantieri F, Burzynski G , Borrego S et al. 2008. Hirschsprung`s disease, associated syndromes and genetic: a review. *J Med genet*, 45:1-5.
- Alizai NK, Batcup G, Dixon FM, Stringer MD.1998. Rectal Biopsy for Hirschsprung`s disease:what is the optimum method?.*Pediatr Surg Int*, 13: 121-124.
- Babu MK, Kini Usha, Das kanishka, Alladi anand, D`cruz J Ashley. 2003. A modified technique for the diagnosis oh Hirschsprung`s disease from rectal biopsies. *The National Medical Journal India*, 16:245-49.
- Bagdzenicius Robertas, Vaicekauskas Vytautas, Bagdzeviciute Sigita. 2007. Experience of acetylcholinesterase histochemistry application in the diagnosis of chronic constipation in children. *Medicine(Kaunas)*, 43:376-384.
- Barr LC, Booth J, Filipe MI, Lawson JON. 1985. Clinical evaluation of the histochemical diagnosis of hirschsprung`s disease. *Gut*, 26:393-399.
- Barberi Jaramillo Lina Eugenia . 2011. Proposed recomendations and guideline for diagnosis of Hirschsprung`s disease in mucosal and submucosal biopsies from the rectum. *Rev Col Gastroenterol*, 4:273-279.



- Blisard KS., Kleinman R., 1986. Hirschsprung's disease: a clinical and pathological overview. *Hum Pathol* 17:1189–1191
- Burns AJ, Pachnis V. 2009. Development of enteric nervous system: bringing together cells, signals and genes. *Neurogastroenteral Motil*, 21: 100-102.
- Caroline Coker Hunley., Louis deS Shaffner., Venkata R., Challa, Anne D Lyerly., 1982. Histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease. *Pediatrics* 69:755-762
- Carpenter Reginal.1967. Hirschsprung's disease. *Postgrad Med J*, 43:135-140.
- Chun-chao huang, Shin Lin Shih, Yi Fang Chen, Fei Shih Yang. 2011. Hirschsprung disease and contrast enema:Diagnostic value of simplified contrast enema and twenty four hour delayed abdominal radiographs. *J Radiol Sei*, 36:159-164.
- Chirdan LB, Uba AF. 2006. Hirschsprung disease presenting in the neonatal period in Jos, Nigeria. *Nigerian Journal of surgical research*, 8:62-64.
- Data rekam medis RSU Dr. Soetomo (Data tidak dipublikasikan)
- Daniel H Teitelbaum, Stephen J, Qualman, Donna A, Caniago. 1988. Hirschsprung's disease identification of risk for enterocolitis. *Ann Surg*, 241-244.
- David Grundy, Michael Schemann. 2007. Enteric nervous sistem. *Curr Opin Gastroenterol*, 23: 121-126.
- De wet PM, Boston VE, Rode H, Davies MR, Cywes S. 1980. The determination of total cholinesterase in rectal biopsy tissue from patients with Hirschsprung's disease. *S.A medical Journal*, 240-242.
- Dick AP, Lennard-Jones JE, Hywel Jones J, Morson BC. 1970. Tehnique for suction biopsy of the rectal mucosa. *Gut*, 11: 182-184.

- Dongcheng Zhang, Inigo M, Brinas, Benjamin J, Binder, Kerry A Landman, Donald F Newgreen. 2010. Neural crest regionalisation for enteric nervous system formation: implications for Hirschsprung`s disease and stem cell therapy. *Developmental biology*, 339:280-294.
- Elizabeth S Gugelmin, Luiz Fernando B tores. 2005. The accuracy of acetylcholine reaction in rectal suction biopsy in the diagnosis of hirschsprung`s disease. *Bras Patol Med Lab*, 41:431-6.
- Florino K, Liacouras CA. *Nelson textbook of Pediatrics*. 19 ed. Philadelphia.: Elsevier, 2011.
- Fouzia Ziad, Kenneth C Katchy, Saleema Al Ramadhan, Susan Alexander, Sunil Kumar. 2006. Clinicopathological features in 102 cases of Hirschsprung`s disease. *Ann Saudi Med*, 3:200-204.
- Garrett JR, Howard ER, Nixon HH.1969. Autonomic nerves in rectum and colon in Hirschsprung disease, a cholinesterase and catecholamine histochemical study. *Arch dis Childh*, 44: 406-417.
- Gershon D Michael, Ratcliffe M Elyanne. 2004. Developmental biology of the enteric nervous system: Pathogenesis of Hirschsprung`s disease and other congenital dysmotilities. *Seminar in Pediatric Surgery*. 13: 224-235
- Ghosh A, GriffithsD M. 1998. Rectal biopsy in the investigation of constipation. *Arch Dis child*, 79 :266-268
- Haricharan N Ramanath, Georgeson E Keith. 2008. Hirschsprung`s disease, 17:266-275.
- Holzer P, Michl T, Danzer M, Jovic M, Schicho R, Lippe TH. 2001. Surveillance of the gastrointestinal mucosa by sensory neurons, *Journal of Physiology and pharmacology*, 4;505-521.
- Howard E W, Garret JR. 1970. Electron microscopy of myenteric nerves in Hirschsprung`s disease and in normal bowel. *Gut*, 11: 1007-1014.

- Huang Y, Zheng S, Xiao X. 2009. Preliminary evaluation of anorectal manometry in diagnosing Hirschsprungs disease in neonates. *Pediatr Surg Int*, 41-45.
- Huntley Coker Carolyn, Shaffner deS Louis, Challa R venkata, Lyerly D Anne. 1982. Histochemical diagnosis of Hirschsprung's disease. *Pediatrics*, 69;755-761.
- Ishfaq Muhammad, Ahmad Farooq Umar, Manzoor Saima. 2014. *Professional Med J*, 21(1):020-026.
- Izadi M, Mansour- Ghanaei M, Jafarshad F, Joukar F, Bagherzadeh AH, Tareh, F. 2009. Clinical manifestation of Hirschsprung's disease: a six year course review of admitted Patients in Gilan, Northern Iran. *Middle east Journal of digestive disease*, 2:67-72.
- Janet R Reid, Buonomo C, Moriera C, Kozakevich HJ, Nurko S. 2000. The barium enema in constipation: comparison with rectal manometry and biopsy to exclude Hirschsprung's disease after the neonatal period. *Pediatr Radiol*, 681-84.
- Jonathan I Lake, Robert O, Heuckeroth. 2013. Enteric Nervous system development: migration, differentiation and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 305: G1-G24.
- Kapur RP. 2000. Development disorders of the enteric nervous system. *Gut*, 47:iv81-iv82
- Karnowsky MJ, Roots L. 1964. A 'direct-colouring' thiocholine method for cholinesterase. *J Histochem Cytochem*, 12: 219.(abstract)
- Kara S, Istek D, Okandan M. 2003. Low cost Instrumentation for the diagnosis of Hirschsprung's disease. *Journal of Medical System*, 157-62.

- Kessmann, Jennifer. 2006. Hirschsprung's disease: diagnosis and management . Am fam Physician, 74: 1319-22
- Kurer MHJ, Lawson jon, Pambakian H. 1986. Suction biopsy in Hirschsprung's disease. Archives of Disease in childhood, 60-61.
- Lorijn Fd. 2005. Constipation in (early) infancy and childhood : pathogenesis and diagnostic procedures. University of Amsterdam Faculty of Medicine,
- Lorenzo CD, Hillemeier C, Hyman P, Loening-Bauck V, Nurko S, Rosenberg A, et al. 2002 Manometry studies in children: minimum standards for procedures. Neurogastroenterol Mot, 411-20
- Mandhan Prakash. 2011. Hirschsprung's disease scientific update. Squ Med J, 138-45.
- Mabula B Joseph, Kayange M Neema, Manyama Mange, Chandika B Alphonco, Rambau F Peter, Chalya L Phillip, 2014. Hirschsprung's disease in children: a five year experience at a university teaching hospital in northwestern Tanzania. BMC Research Notes, 7:1-9.
- Memarzadeh Mehrdad, Talebi Ardeshir, Edalaty Masod, Hosseinpour Mehrdad. 2009. Hirschsprung's disease diagnosis: comparison of imunohistochemical, hematoxilin and eosin staining. J indian assoc Pediatr surg, 14:59-62.
- Meier-Ruge A William, Bruder Elisabeth. Pathology of Cronic Constipation in pediatric and adult Coloproctology. Paris. Karger, 2005.
- Moore SW, Johnson G. 2005. Acetylcholinesterase in Hirschsprung's disease. Pediatr Surg Int, 21: 255-261.
- Nasir AA, Odeniran O, Abdul rahman O. 2007. Hirschsprung's disease: 8 years experience in a Nigerian teaching hospital. J Indian Assoc Pediatr Surg, 12;67-71.

- Orno Ax Sofie, Arnbjornsson E, Gisselsson-Nord D. 2014. A Comparison of Rectal and full thickness biopsy in Hirschsprung's disease. *Surgical Science*, 5:15-19.
- Orr JD, Scobie WG. 1983. Presentation and incidence of Hirschsprung's disease. *British Medical Journal*, 287:1671
- O'Donovan N, Habre, Somers, Malone E, Rees, Winthrop L. 1996. Diagnosis of Hirschsprung's disease . *AJR*, 167:517-520.
- Park Hyun Woo, Choi Ok Soon, Kwon Young Kun, Chang Soon Euk. 1992. Acetylcholine histochemistry of rectal suction biopsies in the diagnosis of hirschsprung disease. *Journal of korean medical scienc*, 7:353-359
- Polley Z Theodore, Coran G Arnold, Heidelberger P Kathleen, Wesley R John. 1986. Suction rectal biopsy in the diagnosis of Hirschsprung's disease and chronic constipation. *Pediatr surg Int*, 1: 84-89.
- Pratap A, Gupta DK, Tiwari A, Sinha AK, Bhatta N, Singh SN et al. 2006. Aplication of plain abdominal radiograph transition zone(PARTZ) in Hirschsprung's disease. *BMC Pediatric*, 1-5.
- Puri P, Montedenico S. *Hirschsprung's disease and Allied disorders*. 3 ed. New York: Springer, 2008.
- Rahman Zillur, Hannan jafrul, Islam Saiful. 2010. Hirschsprung's disease: role of rectal suction biopsy-data on 216 specimens. *J Indian Assoc Surg*, 15:56-58.
- Russell MB, Russel CA, Niebuhr E. 1994. An epidemiological study of Hirschsprung's disease and additional anomalies. *Acta Peadiatr*, 68-71.
- Santos Mercès Maria. Tannuri Uenis. 2008. Study of acetylcholineesterase activity in rectal suction biopsy for diagnosis of intestinal dysgangliosis: 17-year experience of a single center. *Pediatr surg int*, 24:715-719.

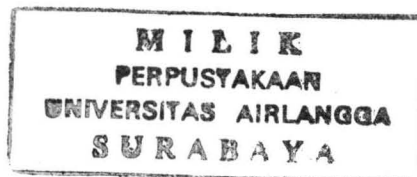
- Schleef Jurgen, Olenik Damiana. 2013. Complication in Hirschprung`s disease. Paediatr Croat supl, 1:133-138.
- Spouge D, Baird PA. Hirschsprung disease in a large birth cohort. Teratology, 1985:171-77.(abstrak)
- Swenson Orvar. 2002. Hirschsprung`s disease: a Review. Pediatrics, 109: 914
- Suita S, Taquchy T, Leiri S, Nakatsuji T. 2005. Hirschsprung's disease in Japan: analysis of 3852 patients based on a nationwide survey in 30 years. J Pediatr Surg,197-201.(abstract)
- Tietelbaum DH, Coran AG,Weitzman JJ, Zeighler M Kane T., 1998. Hirschsprung`s disease and related neuromuscular disorders of intestine, in: O`Neill JA, Rowe MI, Groshfeld JL eds 5thed. Mosby-Year book Inc, 1381-424.
- Tjaden Butler E Naomi, Trainor A Paul. 2013. The Developmental etiology and pathogenesis of Hirschsprung`s disease. Transl Res, 1:1-15.
- Trigg PH, Belin R, Haberkorn S, Long WJ, Nixon HH, Plaschkes J, Spitz L, Willital GH.1973. Experience with a cholinesterase histochemical technique for rectal suction biopsies in the diagnosis of hirschsprung`s disease. J clin Path, 27: 207-213.
- Di unduh dari:
- https://www.cnsforum.com/educationalresource/imagebank/dementia_cholinergic/rcpt_sys_ach_esterase_tgl_28_oktober_2014.
- Vincent MV, Jackman SU. 2009. Hirschsprung`s disease in Barbados a-16 year review. West Indian Med J, 58:347-351.
- Weintrop H William, Heidelberger P Kathleen, Coran G Arnold. 1977. A simplified approach to diagnosis rectal biopsy in infant and children.The american Journal of surgery, 307-310

LAMPIRAN

Lampiran 1

JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

Kegiatan	Bulan ke									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Study kepustakaan	X									
Pengajuan etik penelitian		X								
Penyajian usulan penelitian		X								
Pelaksanaan penelitian			X	X	X	X	X	X	X	
Pengolahan data									X	
Penyusunan laporan penelitian									X	X
Penyajian hasil										X



Lampiran 2

INFORMASI UNTUK SUBYEK PENELITIAN

Dengan Hormat

Bersama ini kami mohon agar Bapak/Ibu sekalian bersedia meluangkan sedikit waktu untuk mendapatkan informasi mengenai manfaat dan resiko bila anak anda mengikuti penelitian ini. Proses ini di kenal sebagai pemberian informasi untuk mendapatkan persetujuan (information for consent). Bila anak anda ikut serta dalam penelitian, anda di minta menandatangani formulir ini. Sebelum anak anda mengikuti penelitian ini maupun setiap saat selama masa penelitian anda berhak menanyakan pendapat kedua tentang perawatan anak anda dari dokter lain yang tidak terlibat dalam penelitian oini, Keikutsertaan anak anda dalam penelitian ini bukanlah sesuatu hal yang bersifat wajib

Pada formulir ini bila ada kata kata yang tidak anda mengerti dapat langsung ditanyakan kepada peneliti untuk memperoleh kejelasan.

Judul penelitian: pemeriksaan histokimia *acetylcholinesterase* dengan *rectal suction* biopsi untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung pada anak.

Peneiti Prof.Dr.Subijanto MS,dr.,SpA(K)
 Dr. IGM.Reza Ranuh,dr.,SpA(K)
 Alpha Fardah, dr,SpA (K)
 Andi Darma,dr.,SpA
 Yeni Kusumawati, dr

Alamat Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran Universitas
 Airlangga, Rumah Sakit Umum dr. Soetomo
 Jl.Prof .Dr. Moestopo6-8 Surabaya

LATAR BELAKANG

Penyakit Hirschprung adalah penyakit bawaan yang ditandai dengan tidak ditemukannya ganglion pada pemeriksaan histokimia. Gejala dari penyakit ini adalah terlambat keluarnya mekonium, muntah warna hijau, perut membesar dan kadang kadang disertai panas, pada pemeriksaan colok dubur didapatkan berat yang menyemprot.

Angka kejadian penyakit Hirschprung ini di dunia berkisar 1 per 4.400 kelahiran hidup sampai 1 per 7.000 kelahiran hidup. Angka kejadian di Indonesia belum pernah di laporkan, penyakit ini lebih sering didapatkan pada laki laki di bandingkan perempuan, penyakit ini juga sering di dapatkan pada bayi dengan kelainan yang lain. Terapi pada penyakit ini hanya dengan pembedahan. Bila tidak segera di lakukan pembedahan maka bayi/ anak bisa mendapatkan komplikasi seperti sepsis atau infeksi yang menyebar ke seluruh tubuh yang akan semakin membahayakan jiwa pasien.

Diagnosis penyakit Hirschprung ini di tegakkan berdasarkan riwayat penyakit, pemeriksaan fisik, dan di dukung dengan pemeriksaan penunjang. Pemeriksaan baku emas untuk penyakit ini adalah pemeriksaan rektal biopsi yang dilanjutkan pemeriksaan histokimia Acetylcholinesterase. Di Indonesia, hanya pemeriksaan histokimia Hematoxilin-Eosin pada jaringan *vries coup* yang dilakukan pada saat operasi sedangkan pemeriksaan biopsi rektal belum bisa dilakukan karena pemeriksaan acetylcholinesterase memerlukan keahlian dan reagen yang khusus, hal ini tentu saja tidak menguntungkan buat penderita karena belum tentu pasien yang di curigai dengan penyakit Hirschprung memang benar menderita penyakit Hirschprung mengingat baku emas dari penyakit ini belum dilakukan.

Berdasarkan kenyataan tersebut peneliti ingin melakukan penelitian diagnostik terhadap penggunaan rectal suction biopsi yang dilanjutkan dengan pewarnaan histokimia Acetylcholinesterase dengan fullthickness biokimia dengan pewarnaan histokimia Acetylcholinesterase sebagai baku emas pada kejadian penyakit Hirschprung di RSUD dr. Soetomo Surabaya. Hasil penelitian ini di harapkan dapat membantu permasalahan penegakan diagnosis penyakit Hirschprung pada anak.

PROSEDURE PELAKSANAAN

Penelitian dilakukan di ruang perawatan anak dan ruang perawatan neonatus. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi yaitu bayi dan anak dengan keluhan terlambatnya keluar mekoneum, muntah hijau, perut membesar dan pada colok dubur di dapatkan buang air besar yang menyemprot di masukkan dalam penelitian ini.

1. Dilakukan anamnesa dan pemeriksaan fisik dan di catat dalam lembar pengumpulan data.
2. Pasien dilakukan pemeriksaan penunjang radiologis berupa foto polos abdomen dan colon in loop
3. Apabila kondisi pasien stabil maka pasien di bawa ke Gedung Pusat Bedah Terpadu RSUD Dr. Soetomo di lakukan Biopsi hisap rektal yang dilanjutkan dengan biopsi rektal dan pembedahan.
 - a. Pasien di puasakan 6 jam sebelum tindakan agar lambung dan duodenum kosong
 - b. Pasien di posisikan tengkurap
 - c. Di masukkan alat suction biopsi melalui dubur, yang sebelumnya sudah dilapisi lubrikan.
 - d. Diberikan tekanan 10-15 cmHg pada manometri
 - e. Kemudian di ambil mukosa jaringan pada 3cm, 4 cm, 5 cm di atas *linea dentata*
 - f. Sampel yang sudah diambil dilakukan pemotongan dengan cryostat
 - g. Dikirimkan ke bagian Patologi anatomi GBPT
4. Data dikumpulkan dan dianalisa.

RESIKO DAN RASA TIDAK NYAMAN

Pelaksanaan pemeriksaan darah memerlukan spesimen darah sehingga memiliki resiko tindakan medis antara lain infeksi dan perdarahan, akan tetapi hanya ringan. Untuk mencegah resiko infeksi dan perdarahan, pengambilan spesimen darah dilakukan tindakan aseptik dan oleh tenaga kesehatan yang berpengalaman

Pemeriksaan rektal biopsi memiliki resiko berupa sedera ringan di saluran cerna dan resiko perdarahan, tetapi hal tersebut dapat dicegah dengan persiapan dan

dilakukan oleh dokter yang berpengalaman. Pasca pemeriksaan rektal biopsi pasien akan dilakukan pembedahan.

BIAYA KEIKUTSERTAAN DALAM PENELITIAN

Pemeriksaan rectal biopsi yang dilanjutkan dengan pewarnaan histokimia Asetylcholinesterase akan dilakukan tanpa membebankan biaya kepada pasien

INFORMASI DAN KERAHASIAAN

Semua catatan kesehatan yang diperoleh selama penelitian ini dijamin kerahasiaannya. Informasi yang akan digunakan untuk kepentingan analisis data, publikasi di jurnal atau pertemuan ilmiah, atau untuk kepentingan pihak lain yang berhubungan dengan penelitian ini hanya boleh disampaikan dalam bentuk nama inisial, sedangkan nama aslinya hanya diketahui oleh dokter peneliti. Keluarga bisa melihat dan mengcopy informasi kesehatan anak anda.

INFORMASI PERKEMBANGAN PENYAKIT SELAMA PENELITIAN

Orang tua dan pasien berhak dan dianjurkan untuk bertanya tentang pemeriksaan ini setiap saat, jika pasien mengalami gangguan yang menurut keluarga berhubungan dengan pemeriksaan yang dilakukan, maka anda dapat menghubungi dr Yeni Kusumawati (03183077743)

PENARIKAN KEMBALI DALAM PENELITIAN

Partisipasi anda dalam penelitian ini adalah sukarela. Pasien dan keluarga setiap saat dapat memutuskan untuk tidak ikut serta dalam penelitian tanpa memperoleh sanksi apapun dari institusi penelitian maupun dari dokter.

PERNYATAAN PERSETUJUAN MENGIKUTI PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : _____

Usia : bulan/tahun

Alamat : _____

Sebagai orang tua/wali dari:

Nama : _____

Usia : bulan/tahun

Jenis Kelamin: laki laki/ perempuan

Alamat : _____

Dengan ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa:

1. Telah diberikan penjelasan tentang tujuan dan prosedur pemeriksaan penyakit Hirschsprung baik prosedur pemeriksaan radiologis maupun pemeriksaan rektal biopsi
2. Penjelasan tersebut dapat saya mengerti dengan baik.
3. Memberikan persetujuan untuk dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, pengutipan rekam medis, serta pemeriksaan penunjang baik radiologis maupun rektal biopsi terhadap anak kami tersebut.
4. Memberikan persetujuan untuk dilakukan anamnesis, pemeriksaan fisik, pengutipan rekam medis, serta pemeriksaan penunjang baik radiologis maupun rektal biopsi terhadap anak kami tersebut tanpa di pungut biaya dan tanpa ganti rugi berupa uang.

Demikian persetujuan ini saya sampaikan dengan penuh kesadaran dan tanpa paksaan.

Surabaya, _____

Saksi

Peneliti

Yang membuat pernyataan

Yang memberi penjelasan

Lembar Pengumpul Data Penyakit Hirschsprung

Nama		No RM	
Jenis Kelamin	Usia : (dalam hari)	Tinggi badan (cm)	Berat badan (Kg)
a. Laki laki			
b. perempuan			
Tgl Masuk Rumah sakit		Usia saat masuk Rumah sakit	
Jenis Pembiayaan			
a. Umum			
b. BPJS			
Anamnesa			
1. Anak lahir cukup bulan?	Ya	Tidak	
2. Ibu dengan PEB	Ya	Tidak	
3. Riwayat ibu KPP	Ya	Tidak	
4. Delayed meconial	Ya	Tidak	
5. Muntah hijau	Ya	Tidak	
6. Perut distended	Ya	Tidak	
7. Panas	ya	Tidak	
8. Kelainan Kongenital lain	Ya	Tidak	
Pemeriksaan fisik			
Vital sign	RR	HR	suhu
1. Down syndroma	Ya		Tidak

2. Abdomen distended	Ya	Tidak
3. RT→menyemprot	Ya	Tidak
Pemeriksaan Radiologis	hasil	
1. BOF		
2. Colon in Loop		
Hasil Laboratorium		
DL		
CRP. Alb		
Kultur darah, feses, urin		
Lain lain		
Rectal Suction Biopsi (Acetylcholin Esterase)	Positif	Negatif
Fullthicknes Biopsi (Acetylcholin Esterase)	Positif	Negatif
Jenis OperASI		
Diagnosa akhir		
Outcome	1. Hidup 2. Mati	



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

163 / Panke.KKE / III / 2015

KOMITE ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN JUDUL :

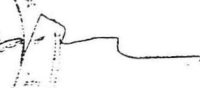
"Pemeriksaan Biopsi Hisap Rektum dengan Pulasan Histokimia Acetylcholinesterase Untuk Mendiagnosis Penyakit Hirschprung"

PENELITI UTAMA : Prof. Dr. Subijanto Marto Sučarmo, dr., Sp.A(K)

PENELITI LAIN : 1. Dr. IGM Reza Gunadi Ranuh, dr., Sp.A(K)
2. Alpha Fardah Athiyah, dr., Sp.A(K)
3. Andy Darma, dr., Sp.A
4. Ariandi Setiawan, dr., Sp.B., Sp.BA
5. Dr. Willy Sandhika, dr., Sp.PA(K), M.Si
6. Lenny Violetta, dr., Sp.Rad
7. Budiono, dr., M.Kes
8. Yeni Kusumawati, dr
8. Adrianus Harry Saputra, dr
9. Yurie Muharmaris Seesar, dr

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN : RSUD Dr. Soetomo Surabaya

DINYATAKAN LAIK ETIK

SURABAYA, 24 AUG 2015
 KETUA

Prof. Hari Sukanto, dr., Sp.KK (K)
 NIP. 19471115 197303 1 001