

TESIS

**KADAR ASETILKOLINESTERASE SERUM DARAH SEBAGAI
ALTERNATIF DIAGNOSTIK PADA PENYAKIT
HIRSCHSPRUNG PREOPERATIF**



Oleh :

Dennis Chrissandy Wasito, dr.

011728076306

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**KADAR ASETILKOLINESTERASE SERUM DARAH SEBAGAI
ALTERNATIF DIAGNOSTIK PADA PENYAKIT
HIRSCHSPRUNG PREOPERATIF**

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister Ilmu Kedokteran Klinik
dalam

Program Studi ILMU KEDOKTERAN KLINIK
Pada Sekolah Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

Dennis Chrissandy Wasito, dr.

011728076306

**PROGRAM STUDI ILMU KEDOKTERAN KLINIK JENJANG MAGISTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dennis Chrissandy W, dr.
NIM : 011728076306
Program Studi : Program Kedokteran Klinik Jenjang Magister – Ilmu Bedah
Judul penelitian : Kadar Asetilkolinesterase Serum Darah Sebagai Alternatif
Diagnostik Pada Penyakit *Hirschsprung* Preoperatif

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa laporan penelitian saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) dan bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan dari karya orang lain. Laporan penelitian ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam laporan penelitian ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan di dalam daftar pustaka. Demikian pernyataan ini dibuat tanpa ada paksaan dari pihak manapun. Apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 10 Agustus 2022

A handwritten signature in black ink is written over a yellow 1000 Rupiah stamp. The stamp features the number '1000' in large red digits and the word 'METERAI' in red. The signature is a cursive, stylized 'D' followed by 'C' and 'W'.

Dennis Chrissandy W, dr.
011728076306

LEMBAR PENGESAHAN

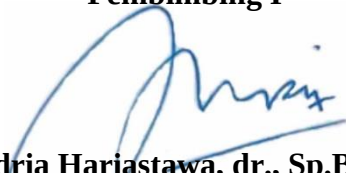
JUDUL : Kadar Asetilkolinesterase Serum Darah Sebagai Alternatif Diagnostik
pada Penyakit *Hirschsprung* Preoperatif

Jenis : Tesis

Oleh : Dennis Chrissandy W, dr.

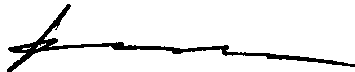
Disetujui oleh,

Pembimbing I



Dr. IGB Adria Hariastawa, dr., Sp.B., Sp.BA (K)
NIP. 19570709 198510 1 001

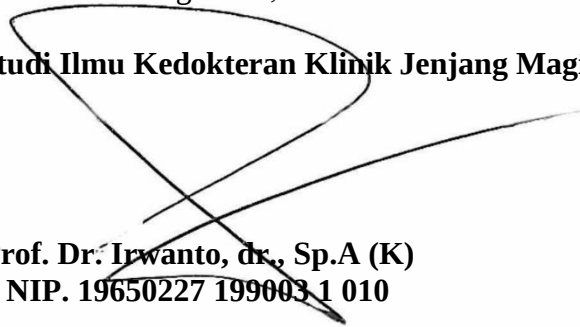
Pembimbing II



dr. Iskandar Ali, Sp.B (K) Onk
NIP. 19640702 199001 1 002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Klinik Jenjang Magister



Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A (K)
NIP. 19650227 199003 1 010

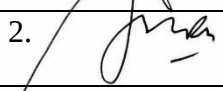
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Nama : Dennis Chrissandy W, dr.
 Program Studi: Ilmu Bedah
 NIM : 011728076306
 Judul : Kadar Asetilkolinesterase Serum Darah Sebagai Alternatif
 Diagnostik pada Penyakit *Hirschsprung* Preoperatif

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada:

Tanggal : 10 Agustus 2022

TIM PENGUJI

No.	Nama	Tanda Tangan
1.	Dr. Marjono Dwi Wibowo, dr., Sp.B(K)KL (Ketua Sidang dan Penguji)	1. 
2.	Dr. IGB Adria Hariastawa, dr., Sp.B., Sp.BA (K) (Pembimbing I)	2. 
3.	dr. Iskandar Ali, Sp.B(K) Onk (Pembimbing II)	3. 
4.	Prof. Dr. Irwanto, dr., Sp.A(K) (Penguji)	4. 
5.	Edwin Danardono, dr., Sp.B-BD (Penguji)	5. 

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI PENELITIAN UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademik Universitas Airlangga, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dennis Chrissandy W, dr.

NIM : 011728076306

Program Studi : Program Kedokteran Klinik Jenjang Magister – Ilmu Bedah

Fakultas : Kedokteran

Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Airlangga **Hak Bebas Royalti Non Eksklusif (*Nonexclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

“Kadar Asetilkolinesterase Serum Darah Sebagai Alternatif Diagnostik pada Penyakit *Hirschsprung* Preoperatif”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Airlangga berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (data base), merawat, dan mempublikasikan tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 10 Agustus 2022



Dennis Chrissandy W, dr.

NIM. 011728076306

KATA PENGANTAR

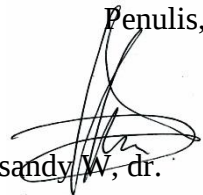
Segala puji dan syukur saya panjatkan kepada Tuhan YME yang senantiasa melimpahkan karuniaNya sehingga saya dapat menyelesaikan tesis dengan judul **KADAR ASETILKOLINESTERASE SERUM DARAH SEBAGAI ALTERNATIF DIAGNOSTIK PADA PENYAKIT *HIRSCHSPRUNG* PREOPERATIF**

Saya menyadari bahwa dalam penyusunan tesis ini masih jauh dari sempurna, karena itu dengan rasa rendah hati saya mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini menjadi lebih baik. Saya pada kesempatan ini, menyatakan rasa terima kasih sebesar – besarnya dan penghargaan setinggi – tingginya kepada:

1. Edwin Danardono, dr., Sp.B(K)BD, selaku Kepala Program Studi Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
2. Dr. Sahudi, dr., SpB(K)KL selaku Kepala Departemen Ilmu Bedah Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
3. Dr. IGB Adria Hariastawa, dr., SpB., SpBA(K), selaku pembimbing utama, yang atas ketekunan, kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dan bimbingan dalam tesis saya.
4. Iskandar Ali, dr., SpB(K)Onk, selaku pembimbing kedua, yang atas ketekunan, kesabaran dan ketelitian beliau dalam memberikan arahan dalam tesis saya.
5. Kedua orangtua saya yang sangat saya cintai atas kasih sayangnya melalui didikan dan pengorbanannya saya bisa berada di sini.
6. Teman – teman seperjuangan selama masa pendidikan dan pihak- pihak lain yang telah membantu terselesaikannya tesis ini.

Surabaya, 10 Agustus 2022

Penulis,


Dennis Chrissandy W, dr.

KADAR ASETILKOLINESTERASE SERUM DARAH SEBAGAI ALTERNATIF DIAGNOSTIK PADA PENYAKIT *HIRSCHSPRUNG* PREOPERATIF

ABSTRAK

Latar Belakang: Standar emas diagnosis penyakit Hirschsprung adalah melalui pemeriksaan histopatologi pada segmen aganglionik. Pentingnya imunohistokimia AChE untuk diagnosis penyakit Hirschsprung telah diterima secara luas. Namun, studi tentang kadar AChE serum pada pasien penyakit Hirschsprung masih sangat terbatas. Pada penelitian ini, kami bertujuan untuk memeriksa kadar serum AChE pada individu dengan penyakit Hirschsprung.

Metode: Sebanyak 29 pasien dilibatkan dalam penelitian ini. Kami membagi pasien menjadi dua kelompok: 14 pasien pada kelompok penyakit Hirschsprung dan 15 pasien pada kelompok kontrol. Pengukuran kadar AChE serum menggunakan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Nilai cutoff yang optimal untuk mendeteksi penyakit Hirschsprung ditentukan dengan menggunakan analisis ROC.

Hasil: Prevalensi Hirschsprung lebih tinggi pada laki-laki daripada perempuan. Rata-rata kadar AChE pada kelompok Hirschsprung adalah $95,89 \pm 51,11$ Unit/mL, sedangkan rata-rata kadar AChE pada kelompok kontrol adalah $44,45 \pm 33,40$ Unit/mL. Nilai cutoff optimal adalah 46,615 Unit/mL. Kami menemukan bahwa sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif, nilai prediksi negatif, dan nilai akurasi dalam penelitian ini masing-masing adalah 83,3%, 70,6%, 66,7%, 85,7%, dan 75,9%. Ada hubungan yang bermakna antara kadar AChE serum dengan penyakit Hirschsprung ($P = 0,004$).

Kesimpulan: Kadar AChE dalam serum darah dapat digunakan sebagai parameter diagnostik alternatif penyakit Hirschsprung. Pasien dengan penyakit Hirschsprung memiliki kadar AChE serum yang lebih tinggi dibandingkan pasien tanpa penyakit Hirschsprung.

Kata kunci: Asetilkolinesterase, diagnostik, penyakit Hirschsprung

THE SERUM ACETYLCHOLINESTERASE LEVELS AS AN ALTERNATIVE DIAGNOSTIC TOOL IN PREOPERATIVE HIRSCHSPRUNG'S DISEASE

ABSTRACT

Background: The golden standard of Hirschsprung's disease diagnosis is through a histopathological examination of the aganglionic site. The significance of AChE immunohistochemistry for the diagnosis of Hirschsprung's disease has been widely accepted. However, the study of serum AChE level in Hirschsprung's disease patients is still scarce. We aimed to examine the serum levels of AChE in individuals with Hirschsprung's disease.

Methods: A total of 29 patients were included in this study. We divided the patients into two groups: 14 patients in Hirschsprung's disease group and 15 patients in the control group. Serum AChE level was measured using enzyme linked immunosorbent assay method. The optimal cutoff value for detecting Hirschsprung's disease was determined using the ROC analysis.

Results: The prevalence of Hirschsprung was higher in male than in female. The average AChE level in Hirschsprung group was 95.89 ± 51.11 Unit/mL, while the average level of AChE in control group was 44.45 ± 33.40 Unit/mL. The optimal cutoff value was 46.615 Units/mL. We found that the sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value, and accuracy values in this study were 83.3%, 70.6%, 66.7%, 85.7%, and 75.9%, respectively. There was a significant relationship between serum AChE levels and Hirschsprung's disease ($P = 0.004$).

Conclusion: AChE levels in blood serum can be used as an alternative diagnostic parameter for Hirschsprung's disease. Patients with Hirschsprung's disease had higher serum AChE levels than patients without Hirschsprung's disease.

Keywords: Acetylcholinesterase, diagnostic, Hirschsprung's disease

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PRASYARAT GELAR	ii
LEMBAR ORISINALITAS	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iv
HALAMAN PENETAPAN PANITIA PENGUJI.....	v
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
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 Maanfaat klinis	4
1.4.2 Maanfaat teoritis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Definisi Penyakit Hirschsprung	5
2.2 Anatomi dan Perkembangan Sistem Saraf Enterik	5
2.2.1 Embrionik sistem saraf enterik (SSE)	6
2.2.2 Perkembangan motilitas usus	7
2.2.3 Gen yang terlibat dalam pengembangan SSE	8
2.3 Fungsi Normal Motorik Kolon dan Struktur Relevan	10
2.3.1 Morfologi.....	10
2.3.2 Histologi	11
2.3.3 Persyarafan otot	13
2.3.4 Fungsi motorik kolon	14
2.4 Patofisiologi Hirschsprung.....	15
2.5 Manifestasi Klinis	20
2.6 Diagnostik Penyakit Hirschsprung	22
2.6.1 <i>Full thickness biopsy</i>	22
2.6.2 Pemeriksaan radiografi	24
2.6.3 Histopatologi dari penyakit <i>hirschsprung</i>	25
2.6.4 Asetilkolinesterase (AChE) dalam jaringan dan darah.....	28
2.6.5 Asetilkolinesterase dan penyakit <i>hirschsprung</i>	36
2.7 Manajemen Penyakit <i>Hirschsprung</i>	39
2.7.1 Manajemen preoperatif.....	40

2.7.2 Manajemen operatif	41
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	52
3.1 Kerangka Konseptual.....	52
3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual.....	52
3.3 Hipotesis Penelitian	53
BAB 4 METODE PENELITIAN	54
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	54
4.2 Populasi Penelitian.....	54
4.3 Sampel Penelitian.....	54
4.3.1 Besar sampel.....	54
4.3.2 Pengambilan sampel	55
4.4 Kriteria Sampel Penelitian	55
4.4.1 Kriteria inklusi.....	55
4.4.2 Kriteria eksklusi.....	55
4.5 Variabel Penelitian.....	55
4.6 Definisi Operasional	56
4.7 Prosedur Penelitian	57
4.7.1 Pengumpulan data	57
4.7.2 Pengukuran kadar AChE pada sampel serum.....	58
4.7.3 Analisis data	58
4.8 Kerangka Operasional.....	59
4.9 Lokasi, Waktu dan Jadwal Penelitian	59
4.9.1 Lokasi penelitian	59
4.9.2 Waktu penelitian.....	59
4.10 Biaya Penelitian.....	60
BAB 5 HASIL PENELITIAN	61
5.1 Deskripsi data penelitian.....	61
5.2 Karakteristik demografis subjek penelitian.....	61
5.3 Kadar AChE pada subjek penelitian	62
5.4 Penentuan cutoff menggunakan analisis ROC.....	63
5.5 Hubungan kadar AChE dengan penyakit Hirschsprung	64
BAB 6 PEMBAHASAN	66
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	72
7.1 Kesimpulan	72
7.2 Saran	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN.....	76

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kolon Manusia	11
Gambar 2.2	Diagram dari Sel Otot Polos.....	13
Gambar 2.3	Diagramatik cross-sections dari Dinding Usus Halus dan Kolon .	14
Gambar 2.4	Karakteristik elektrofisiologi usus pada penyakit Hirschsprung...	19
Gambar 2.5	Gambaran Skematis Usus Aganglionik.....	20
Gambar 2.6	Tampak pasien berusia tiga hari dengan distensi abdomen pada penyakit Hirschsprung.....	22
Gambar 2.7	Alat Rectal Suction Biopsy	24
Gambar 2.8	Hasil Barium Enema.....	25
Gambar 2.9	Pemeriksaan Reaksi LDH pada (a). Plexus myenteric normal dan (b). Penyakit Hirschsprung.....	27
Gambar 2.10	Pewarnaan Kolinesterase pada (A) kolon normal dan (B) kolon dengan Hirschsprung	27
Gambar 2.11	Neuromuscular junction dan mekanisme potensial aksi	37
Gambar 2.12	Algoritma Penegakkan Diagnosis Hirschsprung Berdasarkan Hasil Histopatologis.....	40
Gambar 2.13	Alur Manajemen Pasien Suspek Hirschsprung	45
Gambar 2.14	Anak usia 6 tahun dengan Hirschsprung sebelum dan sesudah dilakukan diversi kolostomi	45
Gambar 2.15	Teknik Swenson	45
Gambar 2.16	Teknik Duhamel	44
Gambar 2.17	Insisi Semisirkular 1-1.5 cm di atas margin anal	45
Gambar 2.18	Forsep menginsersi perianal melalui insisi semisirkular.....	47
Gambar 2.19	Teknik anastomosis menurut deskripsi Duhamel.....	47
Gambar 2.20	Teknik Soave	50
Gambar 2.21	Prosedur tindakan	51
Gambar 3.1	Kerangka Konseptual	52
Gambar 4.1	Kerangka Operasional	59
Gambar 5.1	Kurva ROC	64

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Definisi Operasional Penelitian	56
Tabel 4.2 Waktu Penelitian	60
Tabel 5.1 Karakteristik demografis subjek penelitian.....	62
Tabel 5.2 Kadar AChE pada subjek penelitian	63
Tabel 5.3 Hubungan kadar AChE dengan penyakit Hirschsprung	65

DAFTAR SINGKATAN

AChE	: asetilkolinesterase
BChE	: butirilcholinesterase
ChAt	: choline acetyltransferase
DNTB	: 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic acid
FTB	: full thickness excision biopsy
GDNF	: glial cell line-derived neurotrophic factor
GPI	: glycosylphosphatidylinositol
ICC	: interstitial cells of Cajal
ICJ	: <i>ileocecal junction</i>
LDH	: laktat dehidrogenase
NANC	: nonadrenergic noncholinergic
NC	: neural crest
NEC	: <i>necrotizing enterocolitis</i>
RSB	: <i>rectal suction biopsy</i>
SSE	: Sistem saraf enterik
SDH	: suksinat dehidrogenase
VACHT	: <i>vascular choline acetyltransferase transporter</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit *Hirschsprung* merupakan salah satu kelainan kongenital penyebab gangguan defekasi pada neonatus yang sering dijumpai. Angka kejadian dari penyakit *Hirschsprung* ini berkisar pada angka 1:5000 hingga 1:7000 kelahiran hidup. Penyakit *Hirschsprung* ditandai dengan tidak adanya sel ganglion parasimpatik pada bagian mienterik dan pleksus submukosa di kolon distal. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah gangguan defekasi yang mengakibatkan obstruksi usus, distensi abdomen, muntah, dan gagal tumbuh. *Full thickness biopsy* merupakan pemeriksaan *gold standard* untuk mendiagnosis penyakit *Hirschsprung*. Tindakan operatif merupakan terapi definitif yang dilakukan untuk mengatasi kondisi ini (Russell *et al.*, 1994; Spitz and Coran, 2013; Chia *et al.*, 2016).

Pemeriksaan *full thickness biopsy* bertujuan untuk memastikan keberadaan sel ganglion pada segmen kolon yang menyempit. Hasil yang didapatkan akan lebih akurat apabila mendapatkan spesimen yang tepat dan diambil oleh ahli patologi berpengalaman serta perlu dilengkapi dengan infrasturuktur yang memadai. Selain itu pelaksanaan *full thickness biopsy* cenderung berisiko memberikan diagnosis positif palsu (*false positive*) dari penyakit *Hirschsprung* hipoganglionosis dan memerlukan tindakan bedah yang invasive untuk mendapatkan spesimen yang representatif (Yanagihara *et al.*, 1983; Townsend, 2017; Kuvelkar *et al.*, 2021).

Oleh karena penyakit *Hirschsprung* memerlukan tindakan invasif sebagai pemeriksaan *gold standard*, maka beberapa penelitian telah dilakukan untuk menemukan alternatif diagnostik yang bersifat minimal invasif dan dapat dilakukan di pusat pelayanan kesehatan primer. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar asetilkolinesterase (AChE) dalam darah pada pasien dengan penyakit *Hirschsprung*. Tidak adanya sel ganglion pada kolon yang terkena akan menyebabkan peningkatan konsentrasi asetilkolin dan berakibat pada meningkatnya aktivitas AChE yang diekspresikan ke dalam pleksus saraf dan ke dalam darah. Distribusi enzim AChE di seluruh darah akan terkonsentrasi di dalam eritrosit sebagai protein transmembran dengan enzim yang dibagi dengan rasio 4:1 dalam eritrosit dan plasma. Peningkatan AChE dalam darah disebabkan oleh pelepasan langsung AChE yang berlebihan dari segmen usus yang aganglionik dan karena peningkatan produksi AChE di hati yang disebabkan oleh pelepasan asetilkolin ke dalam aliran darah karena tidak adanya proses hidrolitik yang adekuat pada segmen usus aganglionik sebagai proses kompensasi sistemik (Okasora *et al.*, 1983; Chalkoo *et al.*, 2013; Kuvelkar *et al.*, 2021).

Pemeriksaan kadar AChE di darah dapat dipertimbangkan sebagai alat bantu diagnostik karena tidak invasif, mudah dilakukan, dan pemeriksaan yang lebih cepat. Namun, berbagai penelitian sebelumnya menunjukkan hasil yang tidak konsisten terkait peran peningkatan kadar AChE di darah untuk diagnosis penyakit *Hirschsprung*. Terdapat studi yang menunjukkan bahwa kadar AChE merupakan biomarker dengan performa yang cukup baik (Yanagihara *et al.*, 1983; Chalkoo *et al.*, 2013) dan terdapat pula studi yang melaporkan bahwa kadar AChE darah memiliki akurasi yang kurang baik untuk diagnosis penyakit *Hirschsprung*.

(Okasora *et al.*, 1983; Atias *et al.*, 1991). Selain itu, hingga saat ini penelitian mengenai kadar AChE pada pasien dengan penyakit *Hirschsprung* di Indonesia masih sangat terbatas. Oleh karena itu dalam penelitian ini penulis bertujuan untuk menganalisis kadar AChE dalam darah pada pasien penyakit *Hirschsprung*. Adanya data mengenai kadar AChE pada pasien *Hirschsprung* diharapkan dapat membantu klinisi untuk menegakkan diagnosis *Hirschsprung* terutama di tempat dengan fasilitas diagnostik yang masih terbatas.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah peningkatan kadar asetilkolinesterase darah dapat menjadi alternatif diagnostik pada penyakit *Hirschsprung*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengetahui kadar asetilkolinesterase darah sebagai alternatif diagnostik pada penyakit *Hirschsprung*.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui kadar asetilkolinesterase pada darah pasien penyakit *Hirschsprung*.
2. Untuk mengetahui nilai *cutoff* asetilkolinesterase untuk mendiagnosis *Hirschsprung*.
3. Untuk mengetahui sensitivitas, spesifisitas, dan akurasi kadar asetilkolinesterase pada serum sebagai alternatif diagnostik penyakit *Hirschsprung*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Maanfaat klinis

Memberikan opsi pemeriksaan diagnostik yang noninvasif dan mudah dilakukan untuk mendeteksi penyakit *Hirschsprung* sehingga penanganan dapat diberikan lebih awal.

1.4.2 Maanfaat teoritis

Memberikan informasi mengenai sensitivitas dan spesifisitas kadar asetilkolinesterase pada darah sebagai alat bantu diagnostik penyakit *Hirschsprung*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi Penyakit Hirschsprung

Penyakit *Hirschsprung* atau *Morbus Hirschsprung* adalah suatu kelainan bawaan berupa aganglionosis usus, mulai dari sfingter anal internal kearah proksimal sampai panjang segmen tertentu, tetapi selalu termasuk anus dan setidaknya sebagian rektum (Kartono, 2003). Aganglionosis pada segmen rektosigmoid terjadi pada sekitar 80% kasus, segmen kolon transversum pada 17% kasus, dan pada segmen kolon lain sekitar 8% kasus (Townsend, 2017).

Pada tahun 1886, Harold Hirschprung pertama kali mendeskripsikan penyakit *Hirschsprung* sebagai penyebab dari konstipasi pada awal masa bayi. Penyakit *Hirschsprung* terjadi pada sekitar 1 per 5.000 kelahiran hidup. Penyakit *Hirschsprung* terjadi sekitar 4 kali lebih sering pada laki-laki daripada perempuan. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa hampir semua anak dengan penyakit *Hirschsprung* didiagnosis pada 2 tahun pertama kehidupan, dimana kebanyakan anak-anak yang terkena penyakit ini didiagnosis sebelum mereka berumur 1 tahun (Townsend, 2017).

2.2 Anatomi dan Perkembangan Sistem Saraf Enterik

Sistem saraf enterik (SSE) adalah sistem saraf yang terbesar dan bagian paling kompleks dari sistem saraf tepi. SSE mengandung lebih banyak neuron daripada sumsum tulang belakang dan mampu menghubungkan aktivitas refleksi saat tidak ada sistem saraf pusat. SSE juga memainkan peran penting dalam motilitas gastrointestinal normal (Holschneider and Puri, 2008).

Selama satu dekade terakhir telah terjadi ledakan informasi tentang gen yang mengontrol perkembangan *neural crest* (NC). Analisis molekuler dan genetik telah mengidentifikasi beberapa gen yang berperan dalam perkembangan penyakit *Hirschsprung*. Gen yang berperan utama adalah *RET-proto oncogene* (RET). Perkembangan SSE membutuhkan interaksi kompleks dari berbagai gen yang mengkode faktor transkripsi, molekul pensinyalan (*molecular signalling*), dan reseptor yang terkait. Perkembangan SSE normal didasarkan pada kelangsungan hidup sel yang diturunkan dari NC dan proliferasi sel yang terkoordinasi, pergerakan dan diferensiasinya menjadi neuron dan glia. Proses yang kompleks ini juga dipengaruhi oleh lingkungan mikro usus yang sedang berkembang. Perubahan fungsi gen, kerusakan pada sel NC atau perubahan lingkungan mikro usus dapat menyebabkan perkembangan SSE yang abnormal (Holschneider and Puri, 2008).

2.2.1 Embrionik sistem saraf enterik (SSE)

Ada dua langkah utama dalam perkembangan saluran pencernaan, yaitu: (1) pembentukan saluran usus, dan (2) pembentukan organ individu, masing-masing dengan jenis sel khusus. Gastrulasi adalah langkah awal dalam perkembangan semuanya organisme multisel. Selama gastrulasi sumbu dari embrio ditentukan dan perkembangannya saluran pencernaan dimulai. Gastrulasi menimbulkan tiga lapisan germinal, yaitu endoderm, mesoderm, dan ektoderm. Neuron dari ENS yang mengatur motilitas gastrointestinal diturunkan dari ektoderm. Ektoderm terbagi menjadi tiga jenis sel, ektoderm luar, saraf, dan *neural crest* (NC). NC muncul dari daerah punggung selubung saraf (Holschneider and Puri, 2008).

Perkembangan SSE ditandai dengan munculnya saraf adrenergik dan kolinergik secara dini (pada usia kehamilan antara 9 dan 12 minggu). SSE tidak

hanya terdiri dari saraf adrenergik dan kolinergik tetapi juga saraf otonom nonadrenergik nonkolinergik (*nonadrenergic noncholinergic/ NANC*) yang mengandung peptida berbeda. Peptida ini bertindak sebagai neurotransmitter, atau neuromodulator, atau keduanya. Saraf ini disebut saraf peptidergik. Pada usia kehamilan 12 minggu, neuron nitroergik muncul di ganglia mienterika, di semua tingkat usus, dan mulai pembentukan plexus. Persarafan nitroergik di plexus submukosa menjadi jelas setelah 14 minggu. Seiring bertambahnya usia kehamilan, persarafan nitroergik menjadi lebih kaya dan lebih teratur. Peningkatan jumlah serabut saraf nitroergik terlihat di otot melingkar; beberapa serat ini menonjol dari plexus myenterika. Dengan demikian, permulaan dan kecepatan perkembangan inervasi nitroergik mirip dengan adrenergik dan persarafan kolinergik dan terjadi sebelum persarafan peptidergik. Serotonin (5-HT) bersama dengan glukagon, insulin, peptida XY, gastrin, dan somatostatin adalah zat neurohumoral paling awal yang diekspresikan pada usia kehamilan sekitar 8 minggu. Pada usia kehamilan 24 minggu, sebagian besar zat neurohumoral gastrointestinal yang diketahui dapat diidentifikasi (Holschneider and Puri, 2008).

2.2.2 Perkembangan motilitas usus

Persarafan saluran pencernaan disertai dengan aktivitas fungsional yang semakin kompleks. Studi pertama untuk mengukur transpor usus pada manusia menggunakan amniografi; transpor aboral agen kontras tidak terjadi di saluran usus janin yang lebih muda dari usia kehamilan 30 minggu. Sel saraf enterik terus berdiferensiasi selama beberapa tahun pertama kehidupan, yang berarti sistem saraf bayi bersifat plastik dan berkembang. Ada bukti jelas bahwa perkembangan ENS berlanjut setelah lahir. Distribusi sel ganglion normal ada pada usia kehamilan 24

minggu pada manusia. Ganglia ini terus berkembang hingga masa kanak-kanak. Studi sebelumnya pada spesimen usus manusia telah mengungkapkan bahwa kepadatan sel ganglion NADPH-diaphorase-positif menurun di pleksus submukosa dari usus besar distal manusia dan pleksus myenterika usus kecil manusia, usus besar dan rektum (Holschneider and Puri, 2008).

2.2.3 Gen yang terlibat dalam pengembangan SSE

Perkembangan normal SSE terkait dengan migrasi, proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel yang diturunkan dari NC. Ketika bermutasi atau dihapus, gen ini dapat mengganggu perkembangan SSE. Gen yang terlibat pada perkembangan SSE diantaranya gen reseptor RET, endotelin, gen SOX10, gen PHOX2B, dan HOX11L1 (Holschneider and Puri, 2008).

Reseptor RET adalah komponen signaling kompleks reseptor dengan empat macam ligan neurotropik turunan glial, yaitu glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), neurturin (NTN), artemin (ATM), dan persephin (PSP). Kompleks reseptor lengkap termasuk reseptor RET-tirosin kinase dan komponen pengikat berlabuh glikosilfosfatidylinositol ($GFR\alpha1$, $GFR\alpha2$, $GFR\alpha3$, dan $GFR\alpha4$). Penelitian secara *in vivo* menunjukkan bahwa tidak adanya pensinyalan yang dimediasi GDNF / $GFR\alpha1$ dapat menyebabkan kegagalan pengembangan ENS, sedangkan tidak adanya signaling yang dimediasi oleh NTN / $GFR\alpha2$ dapat menyebabkan kelainan yang lebih halus dalam perkembangan SSE. Mutasi gen RET terjadi pada 50% keluarga dan 15%-20% kasus sporadis penyakit *Hirschsprung*. Perkembangan ENS bergantung juga pada GDNF, yang merangsang proliferasi dan kelangsungan hidup sel prekursor yang diturunkan dari NC di usus embrionik (Holschneider and Puri, 2008).

Endotelin (EDN1, EDN2, dan EDN3) adalah pembawa pesan lokal antar sel yang bekerja melalui reseptor permukaan sel, seperti EDNRA dan EDNRB. Endotelin awalnya diproduksi sebagai proendothelin tidak aktif yang mengalami dua langkah proteolitik untuk menghasilkan peptida aktif. Pembelahan pertama menghasilkan endothelin besar yang tidak aktif, dan ini akhirnya dibelah lagi oleh protease spesifik, yaitu enzim penghancur endotel untuk menghasilkan endothelin yang aktif secara biologis. EDN3 dan EDNRB memiliki peran dalam migrasi dan pengembangan ENS. Beberapa laporan menunjukkan bahwa regulasi di bawah ekspresi EDN3 mungkin memainkan peran dalam patogenesis penyakit *Hirschsprung* (Holschneider and Puri, 2008).

Gen SOX10 diekspresikan dalam turunan puncak saraf yang berkontribusi pada pembentukan sistem saraf tepi selama embriogenesis. Keterlibatan SOX10 dalam perkembangan neuron enterik ditunjukkan pada model tikus Dom (megakolon dominan) penyakit *Hirschsprung* yang menunjukkan aganglionosis usus bagian distal. Mutasi pada SOX10 telah diidentifikasi sebagai penyebab tikus megakolon dominan dan Sindrom Waardenburg-Shah pada manusia, keduanya termasuk cacat pada ENS dan kelainan pigmentasi (Holschneider and Puri, 2008).

Gen PHOX2B adalah faktor transkripsi yang mengandung homeodomain yang terlibat dalam neurogenesis dan mengatur ekspresi RET pada tikus, di mana gangguan pada gen PHOX2B menghasilkan fenotipe mirip penyakit *Hirschsprung*. Ekspresi PHOX2B enterik dimulai pada sel turunan NC vagal dan trunkus saat mereka menyerang mesenkim foregut dan terkandung dalam plexus submukosa dan myenterika dewasa. Selain itu, terdapat pula gen HOX11L1 merupakan suatu gen homeoboks (*homeobox*) yang terlibat dalam perkembangan sistem saraf tepi

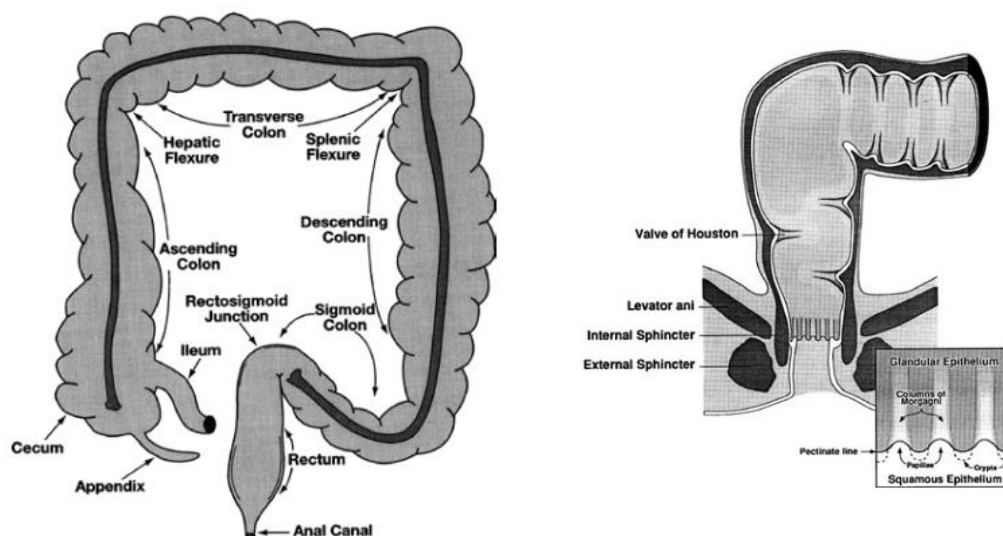
dan dilaporkan berperan dalam proliferasi atau diferensiasi garis sel NC (Holschneider and Puri, 2008).

2.3 Fungsi Normal Motorik Kolon dan Struktur Relevan

Pada seluruh organ, kontraksi menghasilkan sangat banyak aliran antegrade lambat yang memfasilitasi terjadinya proliferasi bakteri. Di bagian paling distal dari usus besar, ada yang hanya sedikit kontraksi secara spontan dan aliran feses dapat terjadi secara otonom untuk memberikan kontrol otonom. Seperti fungsi motorik khusus, begitu berbeda dari orang-orang dari usus kecil dan bagian lain dari saluran pencernaan, memerlukan spesialisasi di saraf dan otot usus, struktur yang bertanggung jawab untuk kontraksi dan aliran (Holschneider and Puri, 2008).

2.3.1 Morfologi

Kolon pada manusia memiliki Panjang sekitar 1,5 m, membentuk lengkungan di dalam perut, dimulai di daerah iliaka kanan, berjalan ke arah sefalad mendekati hati, melewati garis tengah ke hipokondrium kiri, turun ke daerah iliaka kiri dan kemudian melengkung ke garis tengah ke melewati dinding panggul posterior ke anus. Kolon terdiri dari 5 bagian: apendik, sekum, usus besar, rektum dan saluran anal. Kolon itu sendiri memiliki empat bagian yang dinamai menurut posisi di perut: kolon asenden, kolon transversum, kolon desenden dan kolon sigmoid. Ileocecal junction (ICJ) merupakan suatu batas yang memisahkan ileum terminal dari usus besar dan menggambarkan sekum dari kolon asendens. Caecum dapat meluas ke pelvis untuk menyentuh rektum, meluas melintasi garis tengah ke fosa iliaka kiri, atau bahkan meluas ke arah sefalad ke fosa iliaka (Holschneider and Puri, 2008).



Gambar 2.1 Kolon Manusia (Holschneider and Puri, 2008)

2.3.2 Histologi

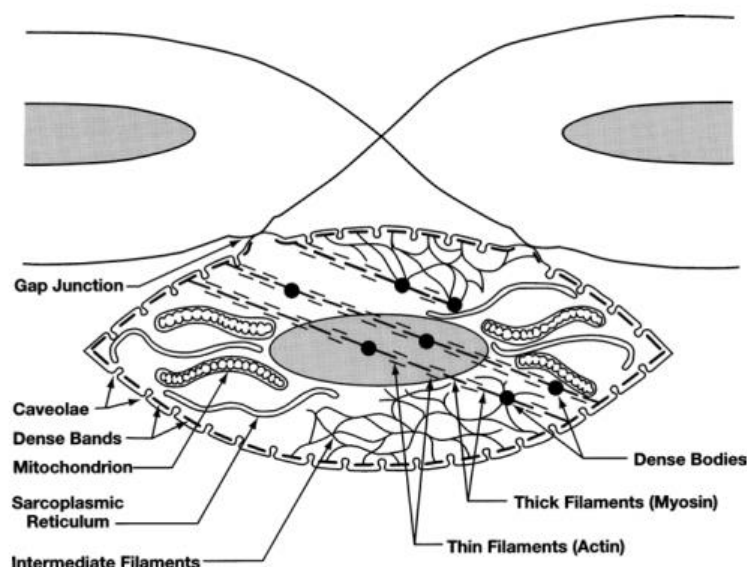
Kolon terdiri dari berbagai jaringan yang disusun menjadi empat lapisan: mukosa, submukosa, muskularis propria, dan serosa. Mukosa itu sendiri mengandung tiga lapisan: epitel, lamina propria, dan muskularis mukosa. Muskularis propria juga mengandung tiga lapisan: lapisan muskulus sirkuler, ruang intermuscular, dan lapisan otot longitudinal (Holschneider and Puri, 2008).

Epitel kolon terdiri dari satu lapisan yang terutama terdiri dari sel kolumnar dan sel piala. Sel kolumnar merupakan sel utama yang mirip dengan usus halus kecuali mikrovili mereka belum sempurna. Sel-sel tersebut berkembang dari sel yang tidak berdiferensiasi di kedalaman kriptus epitel kolon. Lamina propria yang mengisi ruang antara epitel dan mukosa muskularis terutama terdiri dari stroma longgar dari serat kolagen halus. Stroma mengandung fibroblas, limfosit, sel plasma, makrofag, dan eosinofil. Banyak nodul limfoid besar terletak di lamina propria kolon, beberapa di antaranya sangat besar sehingga menonjol ke submukosa. Lamina propria, mengisi ruang antara epitel dan mukosa muskularis, terutama

terdiri dari stroma longgar dari serat kolagen halus. Stroma mengandung fibroblas, limfosit, sel plasma, makrofag, dan eosinofil. Banyak nodul limfoid besar terletak di lamina propria kolon, beberapa di antaranya sangat besar sehingga menonjol ke submukosa (Holschneider and Puri, 2008).

Mukosa muskularis, lembaran tipis yang terus menerus. Otot viseral di dasar lamina propria, terdiri dari jaringan serat kolagen dan elastin yang menopang sekitar empat hingga enam lapisan sel otot polos. Sebagian besar sel otot ini terletak dengan sumbu panjangnya pada sumbu longitudinal pada sisi serosal lapisan dan pada sumbu melingkar pada sisi mukosa. Submukosa di usus besar membentuk sekitar setengah dari ketebalan dinding total, proporsi yang melebihi yang ditemukan di bagian lain usus. Stroma yang longgar dari serat kolagen dan elastin di submukosa mengandung fibroblas, limfosit, sel plasma, makrofag, dan eosinofil (Holschneider and Puri, 2008).

Otot visceral (atau otot polos) gastrointestinal sangat mirip dengan vaskular dan otot polos lainnya. Setiap sel fusiform, dengan panjang sekitar 500–700 μm dan lebar 5–15 μm , berisi satu inti memanjang di dekat titik tengah sel (Gambar 2.2). Otot polos usus adalah jaringan yang relatif padat, dengan proporsi volume jaringan yang merupakan ruang ekstraseluler sekitar 10–30%. Sebagian besar massa terdiri dari sel otot, sedangkan sel-sel lain seperti fibroblas dan proses saraf hanya mendapat proporsi kecil. Membran sel di otot polos memiliki banyak invaginasi dan *caveolae*, masing-masing berdiameter sekitar 70 μm dan dalam 120 μm , serta membuka ke permukaan. *Caveolae* berfungsi untuk meningkatkan luas permukaan sel sebanyak 50–70%. Lebih dari sepertiga luas permukaan sel masuk ke dalam formasi *caveolae* (Holschneider and Puri, 2008).



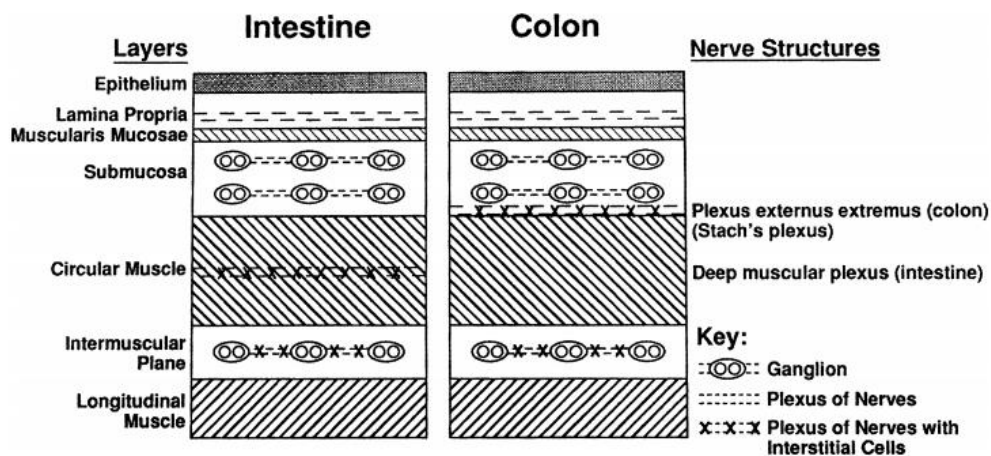
Gambar 2.2 Diagram dari sel otot polos (Holschneider and Puri, 2008)

2.3.3 Persyarafan otot

Persarafan kolon terdiri dari saraf ekstrinsik dan instrinsik. Saraf ekstrinsik kolon menerima suplai saraf ekstrinsiknya melalui saraf vagus (*vagus nerve*), dari saraf pelvik (*pelvic nerve*), dan dari saraf mesenterika (*mesenteric nerve*). Vagus merupakan saraf yang menyediakan persarafan parasimpatis ke seluruh saluran pencernaan dan ke ujung rostral usus besar. Saraf pelvik, yang timbul dari sakral, juga mendistribusikan serabut parasimpatis, komponen sakral dari aliran keluar kraniosakral ke seluruh usus besar. Saraf mesenterika muncul dari ganglia prevertebralis merupakan saraf simpatis, elemen aliran torakolumbal dari sistem saraf pusat (Holschneider and Puri, 2008).

Pleksus mienterika, persarafan intrinsik utama dari kolon, menempati ruang intermuscular antara dua lapisan otot muskularis propria. Ganglia dan sel enteroglial terletak di bidang ini dengan cukup teratur dan distribusi seragam, bergabung dengan fasikula interganglionik. Ganglia di pleksus myenterika terletak

agak berdekatan di bawah teniae daripada di antara keduanya. Jala yang dibentuk oleh ganglia dan fasikula interganglionik, plexus primer, menggambarkan ruang poligonal tidak beraturan yang dengan sendirinya berisi plexus sekunder yang terdiri dari fasikula lebih kecil yang bercabang dari plexus primer. Kumpulan serabut saraf yang lebih kecil membentuk plexus tersier di dalam ruang plexus sekunder. Kepadatan distribusi ganglia (dan saraf badan sel) di plexus myenterika menurun di sepanjang usus besar. Perubahan ini merupakan penurunan keduanya dalam ukuran ganglion dan kepadatan distribusi ganglionik. Penurunan tersebut sedemikian rupa sehingga kepadatan sel saraf di tubuh Plexus mienterika rektal lebih rendah daripada di bagian lain dari usus kecuali pada tingkat sfingter esofagus bagian bawah (Holschneider and Puri, 2008).



Gambar 2.3 Diagramatik cross-sections dari Dinding Usus Halus dan Kolon (Holschneider and Puri, 2008)

2.3.4 Fungsi motorik kolon

“Motilitas” dan “fungsi motorik”, istilah yang banyak digunakan untuk menggambarkan aktivitas otot visceral usus dapat berarti beberapa hal yang berbeda sesuai dengan konteksnya. Istilah ini dapat merujuk pada salah satu atau ketiga proses berikut: (1) aliran isi luminal di usus; (2) kontraksi dan relaksasi otot

dinding usus yang menciptakan aliran ini; dan (3) fungsi fisiologis yang mengontrol kekuatan kontraksi dan distribusinya dalam waktu dan ruang. Adapun kontraksi, mereka dapat menempati salah satu atau semua dari tiga lapisan otot di usus besar dengan kemungkinan kekuatan yang sangat beragam dan distribusi spasiotemporal. Adapun pengendaliannya proses, ahli fisiologi menganggapnya sebagai kontrol saraf, kontrol hormonal, dan kontrol yang muncul di dalam otot itu sendiri, tetapi masing-masing dari tiga kategori besar ini fungsi kontrol mencakup banyak proses yang berbeda (Holschneider and Puri, 2008).

2.4 Patofisiologi Hirschsprung

Patofisiologis dasar pada penyakit *Hirschsprung* adalah adanya obstruksi fungsional yang disebabkan oleh penyempitan segmen aganglionik kolon distal sehingga mencegah terjadinya pergerakan peristaltik usus. Meskipun dengan penelitian ekstensif, patofisiologi penyakit *Hirschsprung* belum sepenuhnya dipahami. Tidak ada penjelasan pasti tentang terjadinya segmen aganglionik usus yang spastik atau kontraksi tonik (Holschneider and Puri, 2008).

Ciri khas patologis penyakit *Hirschsprung* adalah kolon distal yang menyempit dengan zona transisi berbentuk corong ke kolon proksimal yang membesar dan mengalami hipertrofi. Namun, ciri-ciri ini mungkin berbeda dengan durasi penyakit yang tidak ditangani. Pada periode neonatal, usus mungkin tampak normal, tetapi seiring bertambahnya usia anak, usus bagian proksimal mengalami hipertrofi dan menjadi lebih tebal dan lebih lama dari biasanya. Taeniae menghilang dan lapisan otot longitudinal tampaknya mengelilingi kolon sepenuhnya. Telah lama diketahui bahwa gejala obstruksi pada penyakit *Hirschsprung* adalah gejala

sekunder dari motilitas abnormal segmen distal yang sempit, tetapi masih belum ada penjelasan yang pasti untuk terjadinya kontraksi dinding usus pada usus bagian distal dalam penyakit *Hirschsprung* (Holschneider and Puri, 2008).

Temuan paling mencolok di usus bagian distal pada penyakit *Hirschsprung* adalah tidak adanya sel ganglion di plexus mienterik dan submukosa. Aganglionosis biasanya meluas ke daerah rektosigmoid pada $\pm$ 80% pasien. Aganglionosis berlangsung terus menerus dan tidak terputus sampai zona transisi proksimal tercapai. Panjang zona ini dapat bervariasi dan memanjang hingga beberapa sentimeter dan ditandai dengan hipoganglionosis. Beberapa kelainan lain telah dijelaskan terkait dengan penyakit *Hirschsprung* yang mungkin berkontribusi pada patofisiologi dan dapat menjelaskan perbedaan yang jelas antara panjang usus nonfungsional dan derajat obstruksi (Holschneider and Puri, 2008).

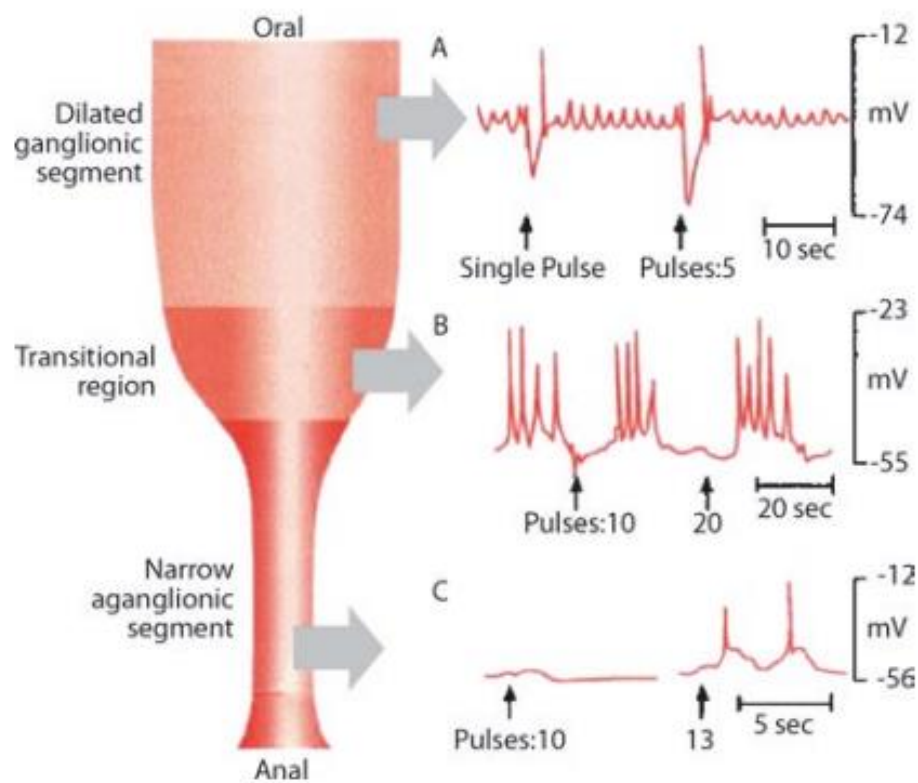
Sehubungan dengan aganglionosis, ada peningkatan pada serabut saraf kolinergik di zona intermuskular dan submukosa pada segmen aganglionik. Serat ini muncul sebagai saraf yang tebal dan berhubungan dengan saraf parasimpatis preganglionik ekstrinsik. Pelepasan asetilkolin terus menerus dari akson saraf parasimpatis akan menghasilkan akumulasi enzim asetilkolinesterase yang berlebihan dan biasanya ditemukan menggunakan teknik pewarnaan histokimia di lamina propria mukosa, muskularis mukosa dan otot melingkar. Kedua saraf yang tebal dan aktivitas asetilkolinesterase yang meningkat banyak di rektum aganglionik paling distal dan semakin berkurang secara proksimal mendekati usus normal. Luasnya proksimal dari peningkatan aktivitas kolinergik tidak selalu sesuai dengan luasnya aganglionosis, yang biasanya meluas lebih ke proksimal hingga derajat variabel. Investigasi farmakologis kolon dalam penyakit *Hirschsprung* telah

menunjukkan pelepasan asetilkolin yang lebih tinggi di segmen aganglionik saat istirahat dan setelah stimulasi dibandingkan dengan ganglionik usus proksimal. Konsentrasi asetilkolinesterase juga ditemukan lebih tinggi pada serum dan eritrosit dari anak-anak yang mengalami penyakit *Hirschsprung*. Hiperplasia saraf kolinergik telah dianggap sebagai penyebab spastisitas segmen aganglionik karena asetilkolin adalah neurotransmitter eksitatori utama. Namun, pada penelitian hewan kimia aganglionosis, setelah penggunaan benzalkonium klorida atau sublimat korosif, usus aganglionik tidak menunjukkan ikatan saraf hipertrofik dan usus masih tampak sempit, dan hewan menunjukkan gejala obstruktif yang khas. Oleh karena itu, hiperinnervasi kolinergik tampaknya tidak menjadi prasyarat untuk munculnya spastik segmen yang sempit (Holschneider and Puri, 2008; Langer, 2020).

Studi fluoresen-histokimia untuk menentukan saraf adrenergik telah menunjukkan bahwa meningkat jumlahnya di kolon aganglionik penyakit *Hirschsprung* dan memiliki distribusi yang tidak teratur. Saraf adrenergik juga ada di lapisan otot melingkar dan longitudinal serta di mukosa, sedangkan hampir tidak ada di kolon ganglionik normal. Namun, sensitivitas usus aganglionik terhadap epinefrin tampaknya tidak meningkat, meskipun terjadi peningkatan jumlah serat adrenergik. Konsentrasi jaringan norepinefrin dua sampai tiga kali lebih tinggi di usus aganglionik dibandingkan pada usus besar yang normal; dan juga ada peningkatan tirosin hidroksilase, enzim yang mengatur biosintesis norepinefrin. Oleh karena saraf adrenergik biasanya bertindak untuk mengendurkan usus, kecil kemungkinan hiperaktivitas adrenergik menyebabkan peningkatan tonus pada kolon aganglionik (Holschneider and Puri, 2008; Langer, 2020).

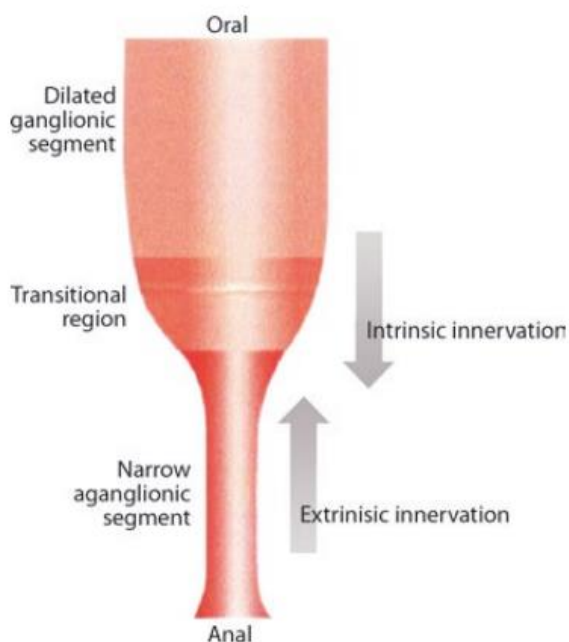
Abnormalitas interstitial cells of Cajal (ICC) telah dikaitkan dengan beberapa gangguan motilitas usus manusia termasuk pada penyakit *Hirschsprung*. Vanderwinden dkk, dengan menggunakan imunohistokimia c-kit adalah yang pertama kali melaporkan bahwa ICC berkurang dan jaringan tampak abnormal pada segmen aganglionik penyakit *Hirschsprung* sedangkan distribusi ICC di usus ganglionik penyakit *Hirschsprung* serupa dengan yang diamati pada kontrol. Selain itu, *gap junction* yang menghubungkan ICC diimunolokalisasi oleh antibodi anti-connexin dan ditemukan tidak ada di bagian aganglionik usus penyakit *Hirschsprung* dan sangat berkurang dari zona transisi (Langer, 2020).

Pada 1940-an Swenson dkk, meneliti peristaltik spesimen penyakit *Hirschsprung*. Mereka menemukan bahwa kontraksi progresif dari kolon proksimal yang melebar tidak memasuki segmen sempit yang lebih distal. Temuan ini memberikan bukti bahwa defek fisiologis di segmen distal dan mengarah pada pembuatan prosedur bedah kuratif baru yang melibatkan reseksi rektosigmoid. Kubota dkk, telah mempelajari selama bertahun-tahun karakteristik elektrofisiologi dan farmakologis dari segmen usus yang berbeda pada spesimen penyakit *Hirschsprung* yang direseksi dengan pembedahan. Ditemukan bahwa, stimulasi denyut tunggal cukup untuk menginduksi hiperpolarisasi membran yang cepat diikuti oleh peningkatan di sebagian besar sel pada usus ganglion yang melebar, di daerah transisi, respon amplitudo hiperpolarisasi menurun dan stimulasi berulang diperlukan untuk menghasilkan respon. Terlebih lagi, di segmen aganglionik yang sempit, stimulasi berulang hanya menimbulkan depolarisasi membran di sekitar 20% sel dan potensi peningkatan dihasilkan hanya jika jumlah denyutan ditingkatkan (Gambar 2.4) (Holschneider and Puri, 2008).



Gambar 2.4 Karakteristik elektrofisiologi usus pada penyakit *Hirschsprung* (Holschneider and Puri, 2008)

Atropin menghilangkan respons depolarisasi di semua segmen dan bahwa hiperpolarisasi membran tidak sensitif terhadap blok kolinergik dan adrenergik dan sepenuhnya dihapuskan oleh tetrodotoksin, yang menunjukkan secara elektrofisiologis adanya persarafan non-kolinergik nonadrenergik. Segmen aganglionik menerima dua aliran saraf dari asal yang berbeda: satu adalah aliran saraf penghambat intrinsik dari segmen ganglionik melalui daerah transisi, sedangkan yang lainnya adalah aliran saraf eksitatori ekstrinsik dari ujung bawah segmen aganglionik (Gambar 2.5). Karena zona transisi adalah tempat terjadinya stagnasi isi usus, disimpulkan bahwa penurunan aliran saraf penghambat intrinsik mungkin menjadi penyebab obstruksi usus (Holschneider and Puri, 2008).



Gambar 2.5 Gambaran Skematis Usus Aganglionik
(Holschneider and Puri, 2008)

Meskipun gambaran histologis yang lebih mencolok pada penyakit *Hirschsprung* adalah tidak adanya sel ganglion, tampaknya ini bukan satu-satunya penyebab peningkatan tonus dinding usus yang memicu obstruksi usus fungsional. Ada sejumlah temuan histopatologi lainnya baik pada segmen aganglionik dan segmen ganglionik proksimal di penyakit *Hirschsprung* yang mungkin menjelaskan perbedaan yang sering ditemukan antara panjang usus nonfungsional dan derajat obstruksi serta untuk gejala obstruksi yang persisten setelah operasi definitif penyakit *Hirschsprung* (Holschneider and Puri, 2008).

2.5 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis yang utama dari penyakit *Hirschsprung* dengan karakteristik terjadi pada lebih dari 90% bayi dengan penyakit *Hirschsprung* lahir dari ibu dengan riwayat antenatal yang normal dan memiliki nilai APGAR yang

baik. Namun evaluasi klinis selama 24 jam pertama kehidupan masih merupakan bagian yang penting untuk mengidentifikasi kelainan kongenital pada neonatus, dimana hampir 90% manifestasi klinis nampak pada periode setelah lahir. Kelainan yang khas pada *Hirschsprung* adalah keterlambatan pengeluaran meconium >24 jam atau sedikitnya jumlah meconium yang keluar, Gejala-gejala tersebut menjadi merupakan gejala klinis utama untuk dilakukan pemeriksaan lebih lanjut terkait dugaan ke arah penyakit *Hirschsprung* dan muncul pada >80% dari keseluruhan kasus. Gejala lainnya yang menguatkan diagnosis antara lain obstruksi usus, gejala ini muncul mulai pada usia 2 hari. Selain itu juga terdapat gejala muntah hijau atau bilious Pada 10%-50% kasus, juga ditemukan distensi abdomen hampir pada semua kasus penyakit *Hirschsprung* (Townsend, 2017).

Gejala lain berupa, konstipasi, diare, anemia, dehidrasi, dan keterlambatan pertumbuhan umumnya ditemukan pada kasus anak-anak atau remaja. Gejala lain yang perlu diperhatikan yaitu NEC (*necrotizing enterocolitis*) sebagai akibat daripada stagnansi daerah yang mengalami aganglionosis, kasus ini terjadi kurang lebih 16%, muncul pada 2-4 minggu pertama setelah kelahiran dengan gejala diare berdarah, demam, anak rewel, dehidrasi, distensi abdomen, feses berbau busuk, warna cokelat tua kekuningan, dan muntah. NEC penting untuk diperhatikan karena keadaan ini meningkatkan mortalitas penderita pasien penyakit *Hirschsprung* hingga 53% (Holocomb III *et al.*, 2020).

Bila didapatkan tanda-tanda edema, gambaran bercak kemerahan pada daerah sekitar pusar/ umbilicus, punggung, dan di sekitar genitalia maka kemungkinan telah terjadi komplikasi daripada penyakit *Hirschsprung* berupa peritonitis. Komplikasi peritonitis di dapatkan pada 2,3% penderita penyakit *Hirschsprung*.

Namun gambaran tersebut tidak hanya dijumpai pada pasien *Hirschsprung*, namun juga dapat juga dijumpai pada pasien dengan NEC, atresia ileum dengan komplikasi perforasi, dan peritonitis intrauterin (Kartono, 2003).



Gambar 2.6 Tampak pasien berusia tiga hari dengan distensi abdomen pada penyakit *Hirschsprung* (Kartono, 2003)

2.6 Diagnostik Penyakit *Hirschsprung*

2.6.1 *Full Thickness Biopsy*

Diagnosis pasti penyakit *Hirschsprung* didasarkan pada hasil temuan biopsi rektal yang ditandai dengan tidak adanya sel ganglion di pleksus mienterikus dan submukosa segmen kolon yang terkena. Biopsi transanal yang diambil dari rektum distal digunakan sebagai *gold standar* untuk diagnosis primer. Tujuan dari *full thickness biopsy* adalah untuk memastikan keberadaan sel ganglion pada segmen kolon yang terkena, yang mana merupakan langkah penting dalam mendiagnosis penyakit *Hirschsprung*. Apabila pada jaringan spesimen ditemukan sel ganglion, maka diagnosis penyakit *Hirschsprung* dieksklusikan (Bamigbola *et al.*, 2014; Bjørn *et al.*, 2018).

Biopsi dapat diperoleh baik dengan transanal *full thickness excision biopsy* (FTB) atau *rectal suction biopsy* (RSB). Di Eropa, 39% ahli bedah melakukan FTB, akan tetapi berbagai negara seluruh dunia (>80%) menggunakan RSB untuk pemeriksaan diagnostik penyakit *Hirschsprung*. RSB dilakukan menggunakan sistem rbi2, seperti yang ditunjukkan pada gambar. Anak yang lebih besar menjalani RSB di ruang operasi, begitu juga apabila menggunakan FTB (Bamigbola *et al.*, 2014; Bjørn *et al.*, 2018).

Rectal Suction Biopsy (RSB) dilakukan setelah alat dikalibrasi ke 300 mmH₂O sebelum digunakan, kemudian alat dimasukkan ke dalam rektum sepanjang dinding posterior dan pisau pemotong diposisikan sekitar 2 cm di atas garis dentate (*linea dentata*). Tekanan lembut dipertahankan oleh operator ke dinding dan kemudian dilakukan pengisapan ke 150 mmH₂O menggunakan manometer atau menarik plunger ke 3-5 ml menggunakan jarum suntik 10 ml oleh asisten, sebelum menekan pisau pemotong. Biasanya dua atau tiga spesimen SRB diperoleh dalam satu kali tindakan (Muisse *et al.*, 2016).

Full Thickness Excision Biopsy (FTB) dilakukan dengan prosedur anestesi umum di ruang operasi. Hal ini dilakukan agar anoskop atau spekulum dapat ditempatkan ke dalam rektum untuk visualisasi lokasi biopsi dengan baik. Jaringan spesimen diperoleh dengan gunting jaringan sekitar 2 cm dari anal verge. Jahitan perlu dilakukan pada lokasi jaringan yang terpotong. Hasil yang didapatkan akan lebih akurat apabila jaringan spesimen yang didapat adekuat dan di periksa oleh ahli yang berpengalaman. Pelaksanaan biopsi ini cenderung memiliki komplikasi seperti perdarahan pasca operasi, sehingga dapat dipilih menggunakan teknik lain

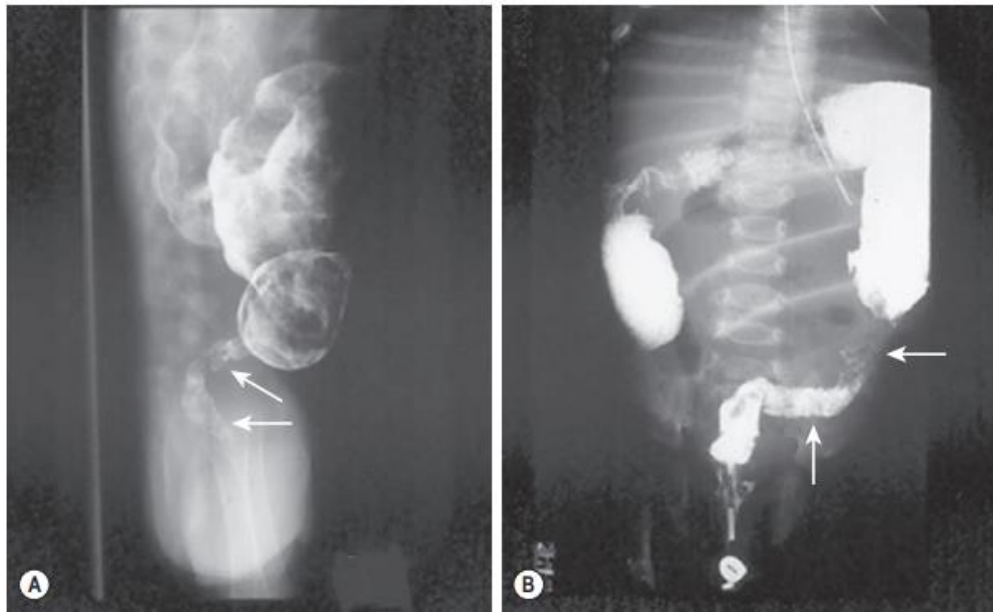
yang lebih tidak invasive (Bamigbola *et al.*, 2014; Muise *et al.*, 2016; Bjørn *et al.*, 2018).



Gambar 2.7 Alat Rectal Suction Biopsy (Bamigbola *et al.*, 2014)

2.6.2 Pemeriksaan radiografi

Diagnosis penyakit *Hirschsprung* dapat dilakukan dengan foto polos, yang juga dapat menunjukkan adanya komplikasi serius seperti enterokolitis. Foto polos abdomen secara khas menunjukkan gambaran distensi gas pada usus dan tanda obstruksi usus. Barium enema juga merupakan pemeriksaan diagnostik standar dimana menunjukkan adanya zona transisi antara kolon normal dan yang aganglionik. Barium enema kurang membantu penegakan diagnosis apabila dilakukan pada bayi, karena zona transisi sering tidak tampak (Langer, 2020).



Gambar 2.8 Hasil Barium Enema (Langer, 2020)

Gambar 2.8 menunjukkan hasil pemeriksaan barium enema pada 2 bayi yang berbeda yang sama-sama menunjukkan adanya penyakit *Hirschsprung*. Rektum aganglionik ditunjukkan oleh panah putih pada kedua gambar. Zona transisi antara kolon aganglionik dan ganglion terlihat baik pada kedua gambar. Pada anak dengan penyakit rektosigmoid, temuan radiologi terbaik didapatkan dengan posisi lateral. Tidak adanya zona transisi radiografi tidak menghilangkan diagnosis penyakit *Hirschsprung*, karena sekitar 10% neonatus dengan penyakit *Hirschsprung* mungkin disertai tanpa adanya zona transisi. Kadang pemeriksaan ini juga memberikan hasil positif palsu, sehingga memerlukan pemeriksaan radiografi setelah 24 jam (Langer, 2012, 2020).

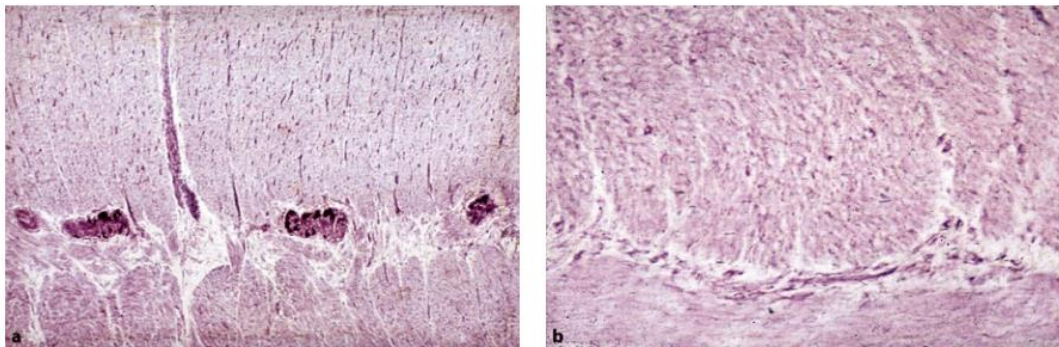
2.6.3 Histopatologi dari penyakit hirschsprung

Telah diketahui sejak laporan Dalla-Valle bahwa ciri paling khas dari penyakit *Hirschsprung* adalah absennya sel ganglion di segmen yang menyempit. Segmen aganglionik dimulai dari cincin anus dan meluas ke proksimal dengan

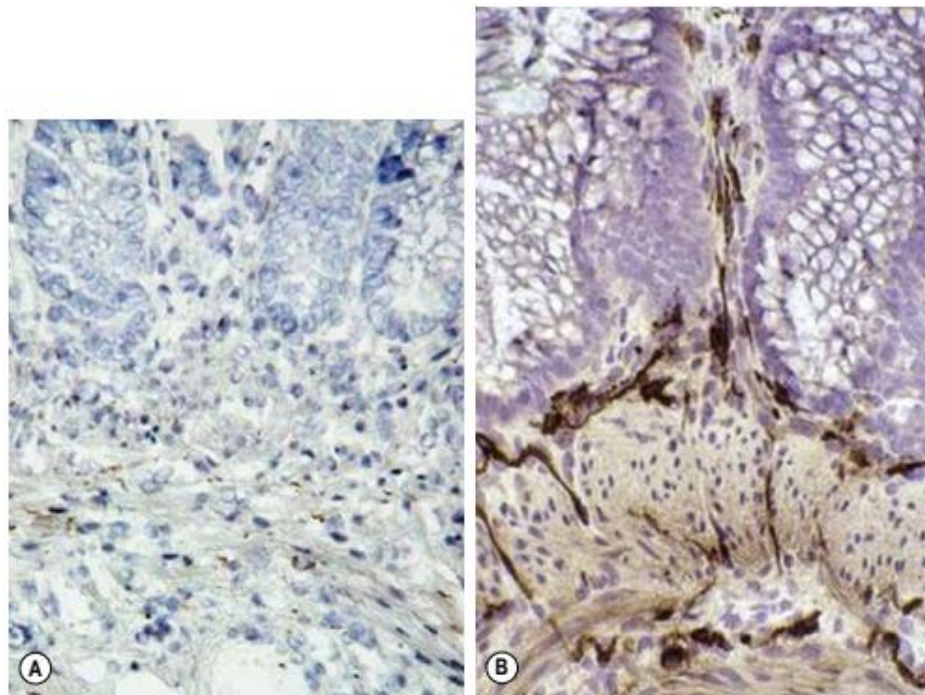
panjang yang bervariasi. Diagnosis penyakit *Hirschsprung* dilakukan dengan pewarnaan hematoksin-eosin (H&E) dari biopsi mukosa. Pemeriksaan dengan pengalaman yang cukup dapat mendukung pengambilan diagnosa yang akurat. Terdapat risiko diagnosis positif palsu dari penyakit *Hirschsprung* dalam kasus hipoganglionosis. Diagnosis segmen *Hirschsprung ultrashort* dengan panjang kurang dari 3-4 cm di atas cincin anus tidak dapat ditegakkan dengan pewarnaan H&E atau reaksi imunohistokimia. Berbeda dengan imunohistokimia atau pewarnaan H&E, pengenalan reaksi enzim histokimia AChE telah membuat diagnosis morfologi penyakit *Hirschsprung* lebih mudah dan lebih dapat diandalkan (Townsend, 2017).

Selain itu, penggunaan histokimia enzim laktat dehidrogenase (LDH) memungkinkan konfirmasi aganglionosis pleksus submukosa karena sel saraf dapat diwarnai secara elektif dengan reaksi LDH. Oleh karena itu, tanpa reaksi dehidrogenase yang sesuai ada risiko hasil positif atau negatif yang salah. Penggunaan rutin LDH dan reaksi suksinat dehidrogenase (SDH) yang memungkinkan visualisasi ganglia dan sel saraf di pleksus submukosa dan mienterika telah memungkinkan untuk mendeteksi kelainan lain dari persarafan kolon dengan gejala penyakit *Hirschsprung*. Dengan diaforase NADH atau reaksi LDH penilaian cepat pada pleksus mienterika dimungkinkan dan dapat dilakukan secara intraoperatif selama reseksi usus besar. Penting bagi ahli bedah untuk menentukan apakah batas reseksi terdiri dari usus besar dengan inervasi abnormal atau normal. Selama investigasi intraoperatif yang cepat, intensitas pewarnaan dapat terus dipantau dan waktu inkubasi dijaga seminimal mungkin untuk diagnosis yang tepat (8-10 menit). Berbeda dengan imunohistokimia, enzim histokimia

menawarkan fleksibilitas yang luar biasa dan hasil yang jauh lebih cepat. Diagnosis penyakit *Hirschsprung* yang dilakukan dengan reaksi kimiawi enzim memiliki ciri-ciri yang mudah dikenali, seperti: tidak adanya sel saraf di submukosa dan pleksus mienterika (sel ganglion divisualisasikan oleh reaksi LDH) dan peningkatan khas aktivitas AChE di serabut saraf parasimpatis dari lamina propria mukosa (Holocomb III *et al.*, 2020).



Gambar 2.9 Pemeriksaan Reaksi LDH pada (a) Plexus myenteric normal dan (b) Penyakit *Hirschsprung*



Gambar 2.10 Pewarnaan Kolinesterase pada (A) kolon normal dan (B) kolon dengan *Hirschsprung* (Holocomb III *et al.*, 2020)

2.6.4 Asetilkolinesterase (AChE) dalam jaringan dan darah

Beberapa metode diagnostik diperlukan bila ada kecurigaan penyakit *Hirschsprung*, seperti pemeriksaan klinis, kontras enema, manometri anorektal, dan biopsi rektal. Rectal Suction Biopsy (RSB) memiliki sensitivitas (93%) dan spesifisitas (100%) paling tinggi dalam mendiagnosis penyakit *Hirschsprung*. Namun demikian, RSB menyebabkan ahli patologi sulit dalam mendiagnosis suatu penyakit *Hirschsprung*. Banyak ahli histopatologi tidak menegakkan diagnosis positif penyakit *Hirschsprung* berdasarkan hasil biopsi rektal, yang menggunakan *stain* hematoksin-eosin konvensional. Hal ini disebabkan karena keraguan jumlah submukosa yang dilihat sebelum tidak adanya sel ganglion, serta kesulitan mengidentifikasi sel ganglion submukosa yang lebih kecil dan tersebar dibandingkan dengan sel ganglion yang lebih padat di pleksus mienterika. (Holschneider and Puri, 2008).

Pengembangan histokimia untuk mendeteksi asetilkolinesterase (AChE) merupakan suatu kemajuan yang berarti dalam penelitian penyakit *Hirschsprung*. *Hirschsprung* secara histologis ditandai dengan hubungan antara tidak adanya kongenital sel ganglion kolon dan peningkatan asetilkolinesterase (AChE) di usus yang terkena. Sel ganglion mungkin sulit dibedakan dari sel endotel atau sel submukosa lainnya. Faktor utama lainnya adalah histokimia AChE membutuhkan jaringan *fresh-frozen* dan menentukan histokimia AChE memerlukan tingkat keahlian tertentu. Oleh karena itu alternatif diagnostik dengan neuronal marker diupayakan untuk mendiagnosis penyakit *Hirschsprung* pada biopsi rektal. Termasuk imunohistokimia yang baru dan neuronal histokimia marker yang

digunakan pada pemeriksaan spesimen usus, misalnya rektal biopsi dan reseksi usus (Holschneider and Puri, 2008).

2.6.4.1 Asetilkolinesterase di jaringan

Asetilkolinesterase (AChE) adalah neurotransmitter utama pada ENS. Saraf kolinergik meningkatkan aktivitas usus seperti kontraksi, dan berhubungan dengan transportasi ion mukosa. Aktivitas AChE merupakan penanda umum dari saraf kolinergik dan digunakan secara luas untuk mendiagnosis penyakit *Hirschsprung* karena AChE menandai serat ekstrinsik yang menembus segmen aganglionik pada penyakit *Hirschsprung*. Namun, AChE juga menandai berbagai neuron perifer kolinergik dan nonkolinergik. Choline acetyltransferase (ChAT) adalah penanda saraf kolinergik yang lebih spesifik dan dapat dipercaya. ChAT adalah enzim yang ditemukan dalam jumlah yang relatif kecil pada jaringan saraf. Sampai saat ini, immuno cytochemistry pada ChAT diterapkan pada bagian yang beku dan jaringan yang difiksasi dengan parafin dan formalin. Saat ini varian penyambung, tipe perifer dari ChAT (pChAT) telah dijelaskan dan tampaknya sangat berguna untuk mempelajari sistem kolinergik enterik.

Sel imunoreaktif ChAT dengan tanda lemah pada lamina propia serta ganglia submukosa dan mienterika setelah pewarnaan terlihat lebih jelas pada colon yang normal. Bagian usus aganglionik memiliki ikatan imunoreaktif-ChAT yang sangat kuat di submukosa dan muskularis eksterna, tetapi serat mukosa bukan imunoreaktif-ChAT. Temuan ini mendapatkan adanya peningkatan jumlah serabut saraf positif AChE di lapisan mukosa yang biasanya berfungsi sebagai penanda diagnostik penyakit *Hirschsprung*. Studi terbaru menggunakan teknik

imunohistokimia cepat mendapatkan bahwa antibodi AchE dan ChAT gagal dalam menentukan persarafan kolinergik.

Sebuah penelitian terbaru menunjukkan bahwa transporter Ach vesikuler (VACHT) adalah penanda kolinergik dan serabut saraf yang dipercaya dalam ENS. Selanjutnya, telah dibuktikan bahwa persarafan kolinergik VACHT-positif jauh lebih luas dari pada yang didapatkan sebelumnya pada manusia. VACHT memberikan keuntungan dalam menyelidiki neuron kolinergik dari ENS pada jaringan dengan parafin. Sejauh ini belum ada studi lebih mendetail yang menggunakan antibodi dalam penelitian penyakit *Hirschsprung*.

2.6.4.2 Asetilkolinesterase dalam darah

Asetilkolin (ACh) adalah neurotransmitter yang penting. Aktivitas sinapsnya diatur oleh asetilkolinesterase (AChE) melalui proses hidrolisis. AChE dan enzim yang dikenal nonspesifik atau pseudokolinesterase (BChE) ditemukan di saraf, otot, darah dan jaringan lainnya. Enzim AChE dalam sistem saraf enterik berperan dalam menyalurkan impuls saraf melalui hidrolisis katalitik neurotransmitter asetilkolin menjadi kolin dan asam asetat di celah sinapsis. Telah dilaporkan bahwa bentuk AChE hadir dalam serum dan eritrosit manusia. Eritrosit AChE telah ditemukan melekat pada komponen membran (Wilson and Henderson, 2007; Kuvelkar *et al.*, 2021).

Darah manusia mengandung dua bentuk kolinesterase (ChE), yaitu asetilkolinesterase yang terkandung pada eritrosit (RBC-AChE) dan butirilkolinesterase yang terkandung dalam plasma (BChE). Pengukuran tingkat RBC-AChE dapat berfungsi sebagai biomarker yang potensial untuk menentukan fungsi kolinergik sistem saraf (Arrieta *et al.*, 2009). Pemeriksaan kolinesterase

lazim digunakan untuk memeriksa adanya keracunan dari bahan kimia pestisida tipe organofosfat. Kadar normal RBC-AChE berbeda pada berbagai kelompok usia. Pada kelompok usia dewasa, rata-rata kadar AChE kelompok pria dan wanita juga dilaporkan berbeda, dimana rata-rata pada pria adalah 0.75 ± 0.06 delta pH units/jam dan pada wanita adalah 0.74 ± 0.07 delta pH units/jam (Arrieta *et al.*, 2009).

Dengan tidak adanya sel ganglion pada kolon yang terkena menghasilkan peningkatan konsentrasi asetilkolin dan akibatnya meningkatkan aktivitas AChE yang diekspresikan dalam pleksus saraf dan dalam darah. Distribusi enzim AChE diseluruh darah terkonsentrasi didalam eritrosit sebagai protein transmembran dengan enzim yang dibagi dalam rasio 4:1 dalam eritrosit dan plasma. Mekanisme peningkatan kadar AChE di darah masih belum dapat dijelaskan secara pasti. Namun, terdapat beberapa hipotesis mengenai mekanisme yang mungkin mendasari hal ini. Terdapat hipotesis yang menyebutkan bahwa peningkatan AChE disebabkan oleh pelepasan langsung AChE yang berlebihan dari segmen usus yang aganglionik. Namun ada pula hipotesis yang menyebutkan bahwa terdapat peningkatan produksi AChE di hati sebagai mekanisme kompensasi sistemik dari proses hidrolitik yang tidak adekuat pada segmen usus aganglionik (Okasora *et al.*, 1983; Kuvelkar *et al.*, 2021).

Penelitian yang dilakukan Boston dkk pada tahun 1978 menunjukkan bahwa aktivitas AChE eritrosit dan AChE serum pada penyakit *Hirschsprung* secara signifikan lebih tinggi dari biasanya. Penelitian ini mengungkapkan uji aktivitas AChE eritrosit dan serum terbukti berguna dan sebagai data tambahan atau tes skrining untuk pasien yang diduga penyakit *Hirschsprung*. Hal ini sangat berguna

untuk melihat aktivitas AChE eritrosit, karena berkorelasi baik dengan aktivitas AChE pada spesimen biopsi rektal, dan aktivitas AChE juga berkorelasi baik dengan evaluasi histokimia (Yanagihara *et al.*, 1983).

Eritrosit asetilkolinesterase (AChE) manusia ditemukan oleh Alles dan Haves pada tahun 1940 kemudian pada tahun 1961 diklasifikasikan sebagai EC. 3.1-1.7 oleh Komisi Enzim. Pada tahun 1975 proses ekstraksi dan pemurnian yang tepat dari membran eritrosit AChE merupakan sebagai glikoprotein atau protein dimer. Efisiensi katalitik dari bentuk dimer AChE tergantung pada media amfipatik ekstraksi dan pemurnian. AChE tergolong dalam protein glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored dan mengandung antigen golongan darah Yta. Parameter yang berpengaruh pada nilai substrat optimum adalah metode yang diterapkan untuk evaluasi kinetik, tiokolin atau asetat, yang perlu diukur ketika asetiltiokolin digunakan sebagai analog sintetik asetikolin (Ach), substrat alami AChE. Nilai afinitas yang rendah dan nilai konsentrasi substrat yang optimal lebih tinggi diperoleh pada kekuatan ion yang tinggi (Saldanha, 2017).

Pada tahun 1973 aktivitas enzim eritrosit AChE dilaporkan sebagai penanda elastisitas membran. Perubahan aktivitas enzim eritrosit AChE telah dibuktikan pada manusia dalam kondisi sehat maupun sakit. Sub-fraksi eritrosit disiapkan secara *in vitro*, menunjukkan bahwa eritrosit yang lama dalam darah memiliki aktivitas enzim AChE lebih rendah dibandingkan eritrosit muda, dimana eritrosit AChE dianggap sebagai *biomarker aging*. Pada wanita sehat, adrenalin menurunkan aktivitas AChE ketika reseptor α dan β adrenergic diblok dan terdapat korelasi yang signifikan antara kekakuan membran eritrosit dengan aktivitas AChE.

Dalam eritrosit laki-laki yang sehat, adrenalin meningkatkan aktivitas AChE ketika tidak terdapat reseptor adrenergik yang diblok.

Adanya karakteristik gender tertentu pada tingkat sel, memiliki implikasi yang penting dalam respon penyakit dan pengobatan. Aktivitas enzim eritrosit AChE yang lebih rendah didapatkan pada petani yang terpapar pestisida juga telah dilaporkan. Evaluasi terbaru dari perubahan longitudinal aktivitas AChE dan enzim paraoxonase-1 pada petani dikarena efek tidak langsung dari pestisida yang menghasilkan molekul oksidan, menginduksi peroksidasi lipid, dan akibatnya mengganggu elastisitas membran eritrosit (Saldanha, 2017).

Pasien dengan hemoglobinuria paroksismal nokturnal dan lainnya dengan anemia hemolitik memiliki kadar eritrosit AChE yang rendah. Pada pasien diabetes mellitus non-insulin yang menjalani angiografi rutin, memiliki gangguan dalam aktivitas enzim eritrosit AChE dan fluiditas yang lebih rendah dalam domain membran eritrosit hidrofobik setelah injeksi fluorescein. Keadaan AChE yang kurang aktif mungkin disebabkan oleh perubahan molekuler konfirmasi yang terjadi di AChE karena penyisipan di dekatnya atau pada elastisitas dinding membran (Saldanha, 2017).

Studi *ex vivo* menggunakan sampel darah yang diperoleh dari pasien yang menderita penyakit yang berbeda seperti Parkinson, hipertensi esensial, glaukoma, vaskulitis retina, amyotrophic lateral sclerosis (ALS), dan penyakit *Hirschsprung* telah dibuktikan adanya peningkatan aktivitas kadar enzim eritrosit AChE. AChE eritrosit dianggap sebagai biomarker hipertensi esensial, glaukoma, ALS, neurotoksisitas, dan keracunan pestisida dan penanda diagnostik pada penyakit *Hirschsprung*. Aktivitas enzim AChE yang lebih tinggi dalam eritrosit yang

ditemukan pada glaukoma, hipertensi esensial, dan ALS, yang merupakan penyakit inflamasi vaskular yang ditandai dengan adanya tanda inflamasi tinggi dalam darah konsentrasi molekul, oksigen reaktif, dan nitrogen reaktif, dengan begitu eritrosit AChE dianggap juga sebagai penanda inflamasi. Modulasi dari aktivitas enzim AChE dipengaruhi oleh substrat alami asetilkolin atau oleh inhibitor kuatt, seperti velnacrine, menunjukkan Ach dengan efek antiinflamasi yang ditandai dengan tindakan protektifnya sebelum inflamasi berkembang (Saldanha, 2017).

2.6.4.3 Teknik pemeriksaan asetilkolinesterase

a. Penentuan Kolorimetri Kolinesterase

Laju hidrolisis asetilkolin (ATCh) yang dikatalis oleh kolinesterase (ChEs) ditentukan secara kolorimetri dengan pembaca plat mikrotiter otomatis dan reagen kolorimetri yang mendeteksi kelompok sulfidril (-SH). ATCh diinkubasi dengan sampel jaringan dan reagen warna, 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB). Tiokolin yang dihasilkan oleh hidrolisis substrat bereaksi dengan DTNB untuk menghasilkan anion berwarna kuning, 5-tio-2-nitrobenzoat (TNB). Pembentukan TNB diikuti secara kinetik menggunakan pembaca pelat mikrotiter. Sebuah enzim *blank* (tidak ada substrat) mendeteksi sulfidril bebas yang mungkin ada dalam sampel. Senyawa SH akan bereaksi langsung dengan DTNB untuk menghasilkan TNB. *Blank substrate* (tidak ada sampel) menunjukkan jumlah pembentukan warna karena adanya hidrolisis non-enzimatik ATCh (Wilson and Henderson, 2007).

b. Penentuan Radiometrik Kolinesterase

Tritiated Ach diinkubasi dengan sampel pada waktu yang telah ditentukan di titik akhir pengujian. Reaksi dihentikan dengan menambahkan larutan yang bersifat basa, tinggi garam, dan mengandung kelebihan analog asam asetat (salah

satu produk akhir dari reaksi). Toluene berbasis bubuk dicampur dengan sampel dan ada fase pemisahan air dan organik. Ach yang tidak terhidrolisis akan masuk fase air, dan didinginkan dengan radioaktivitas. Asetat yang dihidrolisis tetap berada dalam fase pelarut, dimana dapat diukur dengan pencacah sinar (Wilson and Henderson, 2007).

c. Persiapan Sampel untuk Pemeriksaan Kolinesterase

Sampel jaringan harus tetap dingin selama pengantaran, pemrosesan dan penanganan. ChEs merupakan enzim yang stabil, beberapa inhibitor ChE mudah reversibel dan memiliki suhu yang lebih hangat dapat mempercepat proses ini. Reversal seperti itu dapat mengakibatkan perkiraan yang terlalu rendah atau bahkan tidak terdeteksinya inhibitor ChE dalam sampel. Ketika melakukan pengujian sampel untuk pertama kalinya, pengenceran yang tepat harus ditentukan dengan menggunakan subset sampel (Wilson and Henderson, 2007).

Asetilkolinesterase dapat ditentukan dalam darah, atau plasma terpisah dan eritrosit. Serum tidak direkomendasikan karena suhu yang lebih hangat digunakan dalam pemrosesan. Darah harus dikumpulkan dengan antikoagulan, sebaiknya dengan heparin atau EDTA. Darah dipisahkan dengan menggunakan sentrifugal selama 10 menit pada $1000 \times g$ 4°C . Fraksi plasma jernih, berwarna hingga kekuningan, dan mungkin terlihat seperti susu jika kadar lipidnya tinggi. Warna kemerahan menunjukkan beberapa derajat eritrosit lisis, yang menunjukkan bahwa penanganan sampel yang lebih baik dibutuhkan. Salah satu konsekuensi dari lisisnya eritrosit adalah kontaminasi ChEs antara fraksi (Wilson and Henderson, 2007).

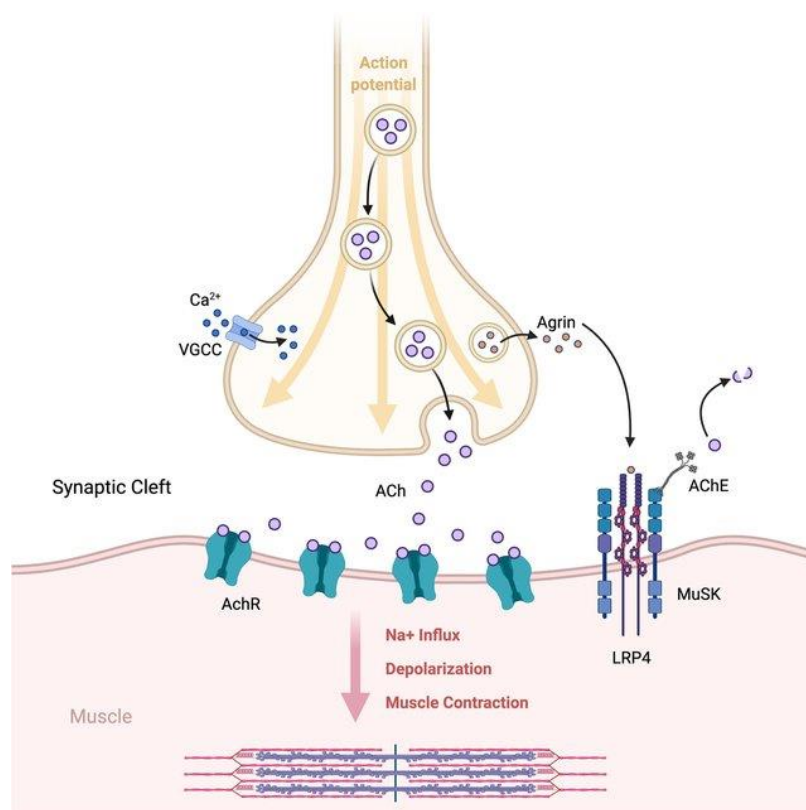
Plasma itu sendiri dapat digunakan secara langsung dalam penentuan ChE atau diencerkan jika aktivitasnya terlalu tinggi. Eritrosit harus dibersihkan dengan meresuspensi paket sel menggunakan buffer ChE, atau normal salin, dengan perbandingan 1:1 buffer/eritrosit (sampai 5:1). Rasio buffer terhadap eritrosit yang lebih tinggi akan menunjukkan pencucian yang efektif. Suspensi akan diresentrifugal selama 10 menit pada 1000 x g, 4°C dan supernatan dibuang. Seluruh darah dan eritrosit diencerkan menggunakan buffer solubilisasi untuk melisiskan eritrosit dengan tujuan mengurangi konsentrasi hemoglobin saat melakukan uji kolorimetri. Pengencerah khas darah manusia adalah 1:50 untuk uji kolorimetri. Beberapa spesies seperti burung, tidak memiliki ChE dalam eritrosit, oleh karena itu hanya membutuhkan fraksi plasma untuk menentukan ChE. Plasma biasanya diuji murni atau diencerkan 1:10. Darah segar yang dapat diolah dengan zat antikoagulan dapat disimpan beberapa hari di lemari es sebelum diproses kecuali jika dicurigai adanya paparan bahan kimia anti-ChE yang dapat direhidrolisa. Sampel yang telah diproses dapat disimpan dalam *freezer* bersuhu rendah (-80°C) untuk waktu yang lama (Wilson and Henderson, 2007).

2.6.5 Asetilkolinesterase dan penyakit *hirschsprung*

Asetilkolinesterase merupakan enzim yang terdapat pada berbagai jaringan dan berfungsi pada sistem saraf pusat maupun sistem saraf perifer untuk menghentikan transduksi sinyal pada neuromuscular junction dengan menghidrolisis asetilkolin yang dilepaskan ke celah sinap kolinergik.

Tugas fisiologis enzim ini adalah penghancuran hidrolitik neurotransmitter kationik asetilkolin. Asetilkolinesterase adalah enzim terikat membran ekstrinsik yang berada pada sinaps. Asetilkolin adalah molekul neurotransmitter yang

bertanggung jawab untuk menimbulkan potensial aksi neuron melintasi sinaps dan memulai potensial aksi baru pada serat otot. Potensial aksi adalah perubahan yang sangat cepat pada membran potensial yang terjadi ketika membran sel saraf dirangsang. Potensial membran berubah dari potensial istirahat (-70 mV) ke beberapa nilai positif ($\sim +30\text{ mV}$) hanya dalam periode waktu beberapa milidetik. Oleh karena itu pada saat potensial aksi, terjadi perubahan muatan listrik membran sel dari potensial membran negatif ke potensial membran positif secara singkat. Proses ini membuka lebih banyak saluran ion di membran yang berdekatan, sehingga gelombang depolarisasi terjadi di sepanjang sel. Saat potensial aksi mendekati puncaknya, *natrium-channel* menutup, dan *kalium-channel* terbuka, memungkinkan ion mengalir keluar dari sel untuk mengembalikan potensi membran.



Gambar 2.11 Neuromuscular junction dan mekanisme potensial aksi
(Lee and Woodruff, 2021)

Salah satu aspek yang menarik untuk diteliti lebih dalam adalah adanya peningkatan level asetilkolinesterase pada dinding usus besar aganglionik. Pada jaringan normal seharusnya tidak menunjukkan hasil positif pada pewarnaan asetilkolinesterase, sehingga kini telah diakui secara umum bahwa hasil pewarnaan AChE yang positif merupakan salah satu pemeriksaan yang menguatkan diagnosis *Hirschsprung*.

Hingga kini, mekanisme pasti peningkatan kadar AChE pada penyakit *Hirschsprung* masih belum sepenuhnya diketahui. Namun, terdapat beberapa dugaan mengenai peranan AChE pada penyakit *Hirschsprung*. Salah satunya adalah AChE mendorong terjadinya adhesi sel dan neuritogenesis pada sistem saraf enteric yang sedang berkembang. AChE merupakan substansi yang ditemukan pada kadar yang sangat rendah pada saluran enterik neonatus, namun seiring bertambahnya usia, kadar AChE cenderung meningkat. Hal ini mungkin berhubungan dengan perkembangan sistem saraf enterik. Tubuh mengekspresikan AChE dalam upaya agar sistem saraf di saluran cerna dapat berdiferensiasi, dan derajat keadaan patologis mungkin dapat mempengaruhi *timing* peningkatan kadar ekspresinya.

Terdapat beberapa hipotesis yang membahas mengenai mekanisme peningkatan kadar AChE sehingga dapat terdeteksi di darah. Pertama, melalui pelepasan AChE secara langsung dari jaringan ke darah. Enzim AChE akan terkonsentrasi pada eritrosit dibandingkan di dalam serum. Kedua, melalui pelepasan neurotransmitter asetilkolin ke dalam darah dikarenakan tidak adanya proses hidrolisis yang adekuat di segmen aganglionik. Peningkatan asetilkolin akan merangsang hati untuk memproduksi enzim AChE sehingga terjadi peningkatan

kadar AChE di dalam darah yang akan terkonsentrasi pada eritrosit (Boston *et al.*, 1978; Okasora *et al.*, 1983; Oue *et al.*, 2000).

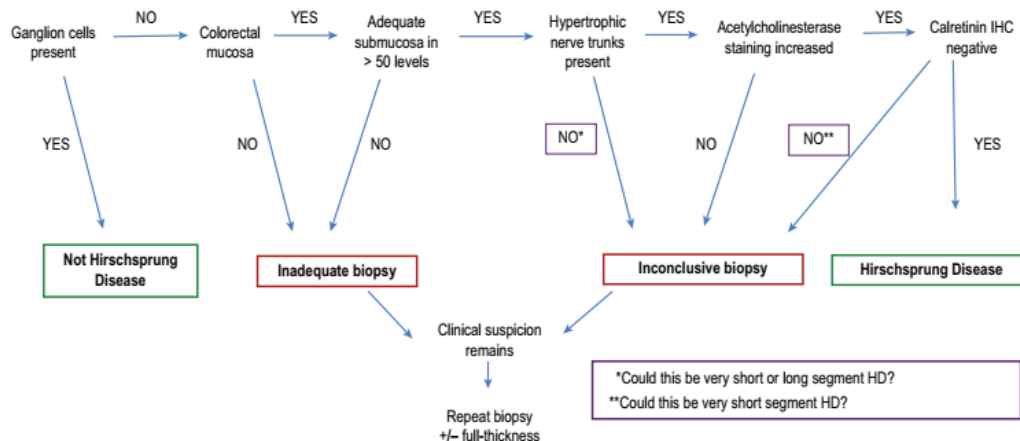
Sebagai tambahan, sebuah studi dengan hewan coba berupa *transgenic mice* menunjukkan adanya peningkatan jaringan saraf, perkembangan neuron, dan proses synaptogenesis pada hewan coba yang mengekspresikan AChE secara berlebihan. Data tersebut menunjukkan peran penting dari AChE dalam proses neuritogenesis, serta menunjukkan bahwa hipertrofi jaringan saraf dan neurofibril yang merupakan karakteristik dari sel aganglionik mungkin merupakan efek langsung dari peningkatan ekspresi AChE. Selain itu AChE juga mungkin berperan tidak hanya dalam proses diferensiasi sel saraf, namun juga migrasi sel saraf.

Studi lain menyebutkan bahwa peningkatan level AChE disebabkan oleh peningkatan transkripsi dan ekspresi AChE yang merupakan efek dari aktivasi berbagai molekul lain, seperti NGF, laminin, netrin, dan semaphorins. Hal ini diperkuat dengan penemuan bahwa transkripsi AChE ditemukan meningkat oleh mekanisme *Ephrin/Eph signalling*.

2.7 Manajemen Penyakit *Hirschsprung*

Setelah pasti didiagnosis penyakit *Hirschsprung* tindakan harus mutlak dilakukan segera adalah tindakan dekompresi medik, atau dekompresi bedah dengan pembuatan sigmoidostomi. Terapi medis hanya dilakukan untuk persiapan bedah. Prosedur bedah pada penyakit *Hirschsprung* merupakan tindakan bedah sementara dan bedah definitif. Prinsip penanganan atau terapi penyakit *Hirschsprung* umumnya dengan melaksanakan dekompresi yang dilakukan dengan *rectal washing* dan *diversion (colostomi)*. Serta terapi definitifnya adalah dengan

pembedahan yaitu dengan mengganti atau membungkus usus yang mengalami anorektum, dan fisura anus.



Gambar 2.12 Algoritma Penegakkan Diagnosis *Hirschsprung* Berdasarkan Hasil Histopatologis (Holcomb III *et al.*, 2020)

2.7.1 Manajemen preoperatif

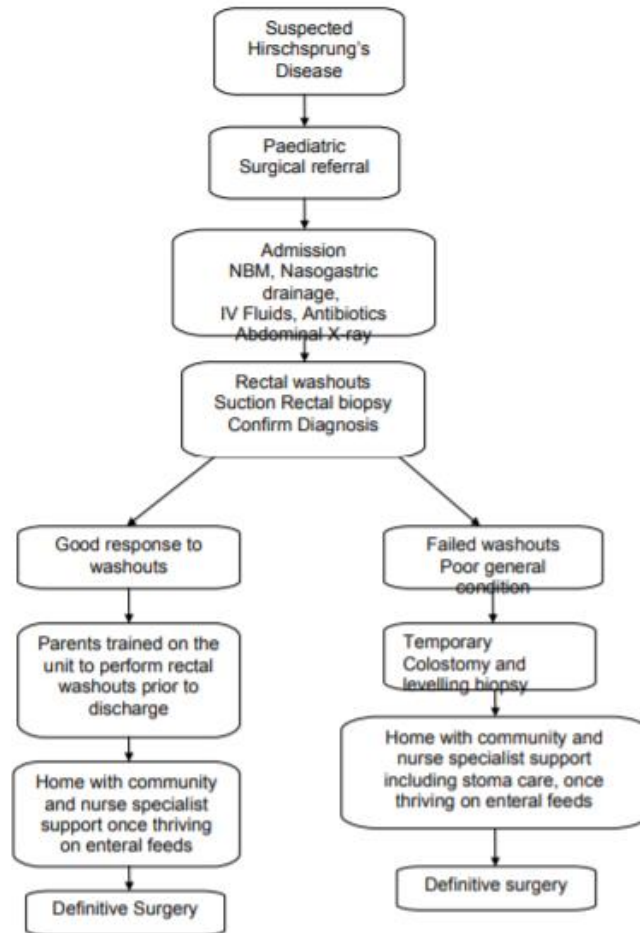
2.7.1.1 Diet

Pada periode preoperatif, neonatus dengan *Hirschsprung* terutama menderita gizi buruk disebabkan buruknya pemberian makanan dan keadaan kesehatan yang disebabkan oleh obstruksi gastrointestinal. Sebagian besar memerlukan resusitasi cairan dan nutrisi parenteral. Meskipun demikian bayi dengan *Hirschsprung* yang didiagnosis melalui suction rectal biopsy dapat diberikan larutan rehidrasi oral sebanyak 15 mL/ kg tiap 3 jam selama dilatasi rectal preoperative dan irigasi rektal.

2.7.1.2 Terapi Farmakologi

Terapi farmakologik pada bayi dan anak-anak dengan *Hirschsprung* dimaksudkan untuk mempersiapkan usus atau untuk terapi komplikasinya. Untuk mempersiapkan usus adalah dengan dekompresi rectum dan kolon melalui serangkaian pemeriksaan dan pemasangan irigasi tuba rectal dalam 24-48 jam

sebelum pembedahan. Antibiotik oral dan intravena diberikan dalam beberapa jam sebelum pembedahan.



Gambar 2.13 Alur Manajemen Pasien Suspek *Hirschsprung* (Uppasani and England, 2019)

2.7.2 Manajemen operatif

Terapi terbaik pada bayi dan anak dengan *Hirschsprung* tergantung dari diagnosis yang tepat dan penanganan yang cepat. Keputusan untuk melakukan *pull-through* ketika diagnosis ditegakkan tergantung dari kondisi anak dan respon dari terapi awal. Decompresi kolon dengan pipa besar, diikuti dengan washout serial, dan meninggalkan kateter pada rektum harus dilakukan. Antibiotik spektrum luas

diberikan, dan mengkoreksi hemodinamik dengan cairan intravena. Pada anak dengan keadaan yang buruk, perlu dilakukan colostomy (Kartono, 2003).

Diagnosis dari penyakit *Hirschsprung* pada semua kasus membutuhkan pendekatan pembedahan klinik terdiri dari prosedur tingkat multipel. Hal ini termasuk kolostomi pada neonatus, diikuti dengan operasi *pull-through* definitif setelah berat badan anak >5 kg (10 pon). Ada 3 pilihan yang dapat digunakan, untuk setiap prosedurnya, prinsip dari pengobatan termasuk menentukan lokasi dari usus di mana zona transisi antara usus ganglionik dan aganglionik, reseksi bagian yang aganglionik dari usus dan melakukan anastomosis dari daerah ganglionik ke anus atau bantalan mukosa rektum. (Granéli *et al.*, 2017)

Dewasa ini ditunjukkan bahwa prosedur *pull-through* primer dapat dilakukan secara aman bahkan pada periode neonatus. Pendekatan ini mengikuti prinsip terapi yang sama seperti pada prosedur bertingkat melindungi pasien dari prosedur pembedahan tambahan. Banyak dokter bedah melakukan diseksi intra abdominal menggunakan laparoskop. Cara ini terutama banyak pada periode neonatus yang dapat menyediakan visualisasi pelvis yang baik. Pada anak-anak dengan distensi usus yang signifikan adalah penting untuk dilakukannya periode dekompresi menggunakan *rectal tube* jika akan dilakukan *single stage pull-through*. Pada anak-anak yang lebih tua dengan kolon hipertrofi, distensi ekstrim, kolostomi dilakukan dengan hati-hati sehingga usus dapat dekompresi sebelum dilakukan prosedur *pull-through*. Namun, harus ditekankan, tidak ada batas umur pada prosedur *pull-through* (Holocomb III *et al.*, 2020).

Dari ketiga prosedur *pull-through* yang dilakukan pada penyakit *Hirschsprung* yang pertama adalah prosedur Swenson. Pada operasi ini rektum

aganglionik diseksi pada pelvis dan dipindahkan ke anus. Kolon ganglionik lalu dianastomosis ke anus melalui pendekatan perineal. Pada prosedur Duhamel, diseksi di luar rektum dibatasi terhadap ruang retrorektal dan kolon ganglionik dianastomosis secara posterior tepat di atas anus. Dinding anterior dari kolon ganglionik dan dinding posterior dari rektum aganglionik dianastomosis menggunakan *stappler* (Holocomb III *et al.*, 2020).

Walaupun kedua prosedur ini sangat efektif, namun keterbatasannya adalah adanya kemungkinan kerusakan syaraf parasimpatis yang menempel pada rektum. Untuk mengatasi masalah ini, prosedur Soave menyertakan diseksi seluruhnya dari rektum. Mukosa rektum dipisahkan dari mukosa muskularis dan kolon yang ganglionik dibawa melewati mukosa dan dianastomosis ke anus. Operasi ini dapat dilakukan sepenuhnya dari bawah. Dalam banyak kasus, sangat penting untuk menentukan dimana terdapat usus yang ganglionik. Banyak ahli bedah mempercayai bahwa anastomosis dilakukan setidaknya 5 cm dari daerah yang sel ganglion terdeteksi. Dihindari dilakukannya *pull-through* pada zona transisi yang berhubungan dengan tingginya angka komplikasi karena tidak adekuatnya pengosongan segmen usus yang aganglionik. Sekitar 1/3 pasien yang di *pull-through* pada zona transisi akan membutuhkan reoperasi (Holocomb III *et al.*, 2020). Tindakan operatif tergantung pada jenis segmen yang terkena.

2.7.2.1 Tindakan Bedah Sementara

Tindakan bedah sementara pada penderita penyakit *Hirschsprung* adalah berupa kolostomi pada usus yang memiliki ganglion normal paling distal. Tindakan ini dimaksudkan guna menghilangkan obstruksi usus dan mencegah enterokolitis sebagai salah satu komplikasi yang berbahaya. Manfaat lain dari kolostomi adalah

menurunkan angka kematian pada saat dilakukan tindakan bedah definitif dan mengecilkan kaliber usus pada penderita penyakit *Hirschsprung* yang telah besar sehingga memungkinkan dilakukan anastomosis (Davenport *et al.*, 2020).



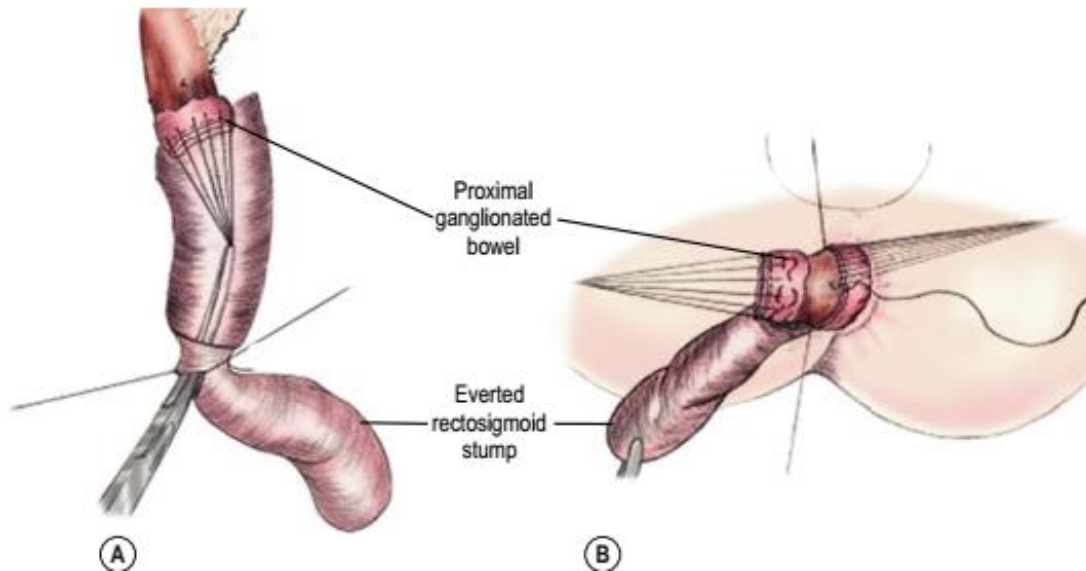
Gambar 2.14 Anak usia 6 tahun dengan *Hirschsprung* sebelum dan sesudah dilakukan diversi kolostomi. Tampak gambaran sebelum kolostomi abdomen terdistensi dan buncit. Setelah 3 bulan abdomen tampak normal (Kartono, 2003)

2.7.2.1 Tindakan bedah definitif

1. Prosedur Swenson

Orvar swenson dan Bill (1948) adalah yang mula-mula memperkenalkan operasi tarik terobos (*pull-through*) sebagai tindakan bedah definitif pada penyakit *Hirschsprung*. Pada dasarnya, operasi yang dilakukan adalah rektosigmoidektomi dengan preservasi spinkter ani. Dengan meninggalkan 2-3 cm rektum distal dari linea dentata, sebenarnya adalah meninggalkan daerah aganglionik, sehingga dalam pengamatan pasca operasi masih sering dijumpai spasme rektum yang ditinggalkan. Oleh sebab itu Swenson memperbaiki metode operasinya (tahun 1964) dengan

melakukan spinkterektomi posterior, yaitu dengan hanya menyisakan 2 cm rektum bagian anterior dan 0,5-1 cm rektum posterior (Kartono, 2003).



Gambar 2.15 Teknik Swenson (Holcomb III *et al.*, 2020)

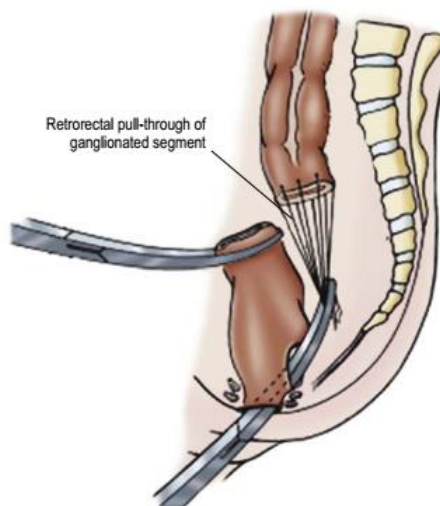
Prosedur Swenson dimulai dengan approach ke intra abdomen, melakukan biopsi eksisi otot rektum, diseksi rektum ke bawah hingga dasar pelvik dengan cara diseksi serapat mungkin ke dinding rektum, kemudian bagian distal rektum diprolapskan melewati saluran anal ke dunia luar sehingga saluran anal menjadi terbalik, selanjutnya menarik terobos bagian kolon proksimal (yang tentunya telah direseksi bagian kolon yang aganglionik) keluar melalui saluran anal. Dilakukan pemotongan rektum distal pada 2 cm dari anal verge untuk bagian anterior dan 0.5-1 cm pada bagian posterior, selanjutnya dilakukan anastomose end to end dengan kolon proksimal yang telah ditarik terobos tadi. Anastomose dilakukan dengan 2 lapis jahitan, mukosa dan sero- muskuler. Setelah anastomose selesai, usus dikembalikan ke kavum pelvis/ abdomen. Selanjutnya dilakukan reperitonealisasi, dan kavum abdomen ditutup (Brunicardi, 2019).

2. Prosedur Duhamel

Prosedur ini diperkenalkan Duhamel tahun 1956 untuk mengatasi kesulitan diseksi pelvik pada prosedur Swenson. Prinsip dasar prosedur ini adalah menarik kolon proksimal yang ganglionik ke arah anal melalui bagian posterior rektum yang aganglionik, menyatukan dinding posterior rektum yang aganglionik dengan dinding anterior kolon proksimal yang ganglionik sehingga membentuk rongga baru dengan anastomose end to side (Davenport *et al.*, 2020).

Teknik operasi, awalnya biopsi diambil pada tempat yang sesuai pada bagian beku sebelum memobilisasi kolon sigmoid dan rektum. Keputusan akhir tentang luasnya reseksi ke proksimal ditentukan berdasarkan hasil pemeriksaan histologis. Kolon sigmoid dan rektum bagian proksimal dimobilisasi setelah peritoneum lateral terbuka. Kolon bagian proksimal ditutup dengan jahitan pursestring dan rektum tepat di atas atau di dasar peritoneum, mirip dengan operasi Hartmann. Satu atau dua lapisan jahitan *resorbable* digunakan untuk bagian distal dari rektum.

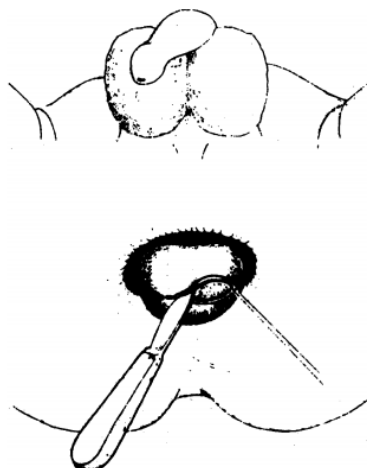
Reseksi kolon bagian atas dilakukan seperlunya. Zona aganglionik yang menyempit dan segmen megakolik dimobilisasi secara bersamaan. Sebagian besar bagian kolon yang dilatasi sebaiknya direseksi untuk memungkinkan anastomosis yang lebih mudah. Setelah mobilisasi dan reseksi yang sesuai, lakukan pembelahan vaskular tanpa memperhatikan skema anatomi klasik vaskularisasi.



Gambar 2.16 Teknik Duhamel (Holocomb III *et al.*, 2020)

Pembukaan mesorektum memberikan akses yang baik ke ruang retrorektal. Ruang ini dibuka ke dasar panggul di antara lamina sakrogenitopubik yang dipreservasi. Forsep lengkung yang dilengkapi dengan spons kecil didorong ke bawah ke dinding posterior anal canal dan belok melewati anus, yang kemungkina dilatasi sebelumnya (Gambar 2.14).

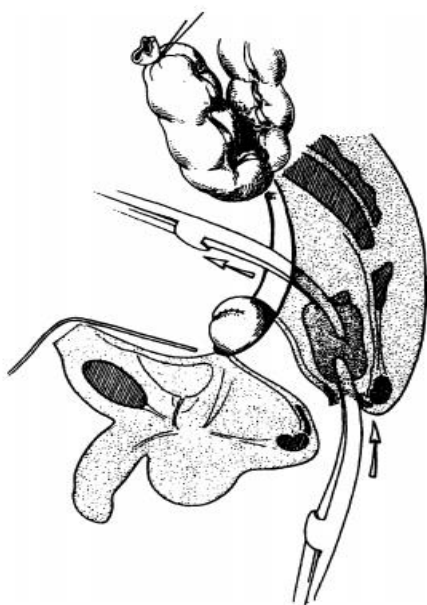
Insisi semisirkular dibuat sekitar 1-1.5 cm di atas margin anal, tepat di atas garis dentate (Gambar 2.15). Mukosa dan sfingter internal dibuka ke ruang retrorektal, yang diisi dengan spons yang dimasukkan melalui abdomen. Spons dan ujung klem dijulurkan melalui anal dan jahitan sementara pada dua sudut insisi anal.



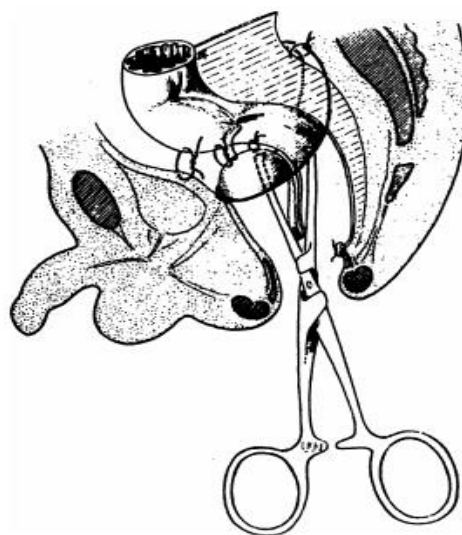
Gambar 2.17 Insisi Semisirkular 1-1.5 cm di atas margin anal (Holocomb III *et al.*, 2020)

Dengan menggunakan spons sebagai pemandu, forsep lainnya ditarik ke arah retrograde melalui ruang retrorektal ke dalam rongga peritoneum (Gambar 2.16). Bagian proksimal dari kolon kemudian digenggam dan ditarik ke bawah dalam ruang retrorektum dan melalui insisi anal bagian posterior. Perhatikan untuk menghindari putaran atau peregangan yang berlebihan. Setelah itu anastomosis dapat dilakukan dengan jahitan *interrupted* yang resorbable dengan menempelkan bagian posterior kolon yang di tarik ke bagian bawah dari insisi anal. Setelah itu, bagian anterior dari kolon dipasang ke bagian atas insisi, anastomosis kolorektal *end to side*.

Pada deskripsi Duhamel, anastomosis side-to-side dari anterior rektum aganglionik dan posterior kolon ganglionik dibuat dengan menghancurkan septum dengan menggunakan dua klem Kocher, yang dimasukkan untuk membentuk V terbalik di apeks kantong rektal (Gambar 2.17). Posisi klem diperiksa secara transabdominal dengan palpasi. Klem lepas setelah 4 sampai 10 hari.



Gambar 2.18 Forsep menginsersi perianal melalui insisi semisirkular (Holocomb III *et al.*, 2020)



Gambar 2.19 Teknik anastomosis menurut deskripsi Duhamel (Holocomb III *et al.*, 2020)

Prosedur Duhamel asli memiliki beberapa kelemahan, diantaranya sering terjadi stenosis, inkontinensia dan pembentukan fekaloma didalam rektum yang ditinggalkan apabila terlalu panjang. Oleh karena itu dilakukan beberapa modifikasi dari prosedur Duhamel, diantaranya:

- a. Modifikasi Grob (1959): Anastomosis dengan pemasangan 2 buah klem melalui sayatan endoanal setinggi 1,5-2,5 cm, untuk mencegah inkontinensia;
- b. Modifikasi Ikeda: Ikeda membuat klem khusus untuk melakukan anastomose, yang terjadi setelah 6-8 hari kemudian;
- c. Modifikasi Adang: Pada modifikasi ini, kolon yang ditarik transanal dibiarkan prolaps sementara. Anastomose dikerjakan secara tidak langsung, yakni pada hari ke-7-14 pasca bedah dengan memotong kolon yang prolaps dan pemasangan 2 buah klem; kedua klem dilepas 5 hari berikutnya. Pemasangan klem disini lebih dititikberatkan pada fungsi hemostasis.
- d. Modifikasi Talbert dan Ravitch: Modifikasi berupa pemakaian stapler untuk melakukan anastomose *side to side* yang panjang

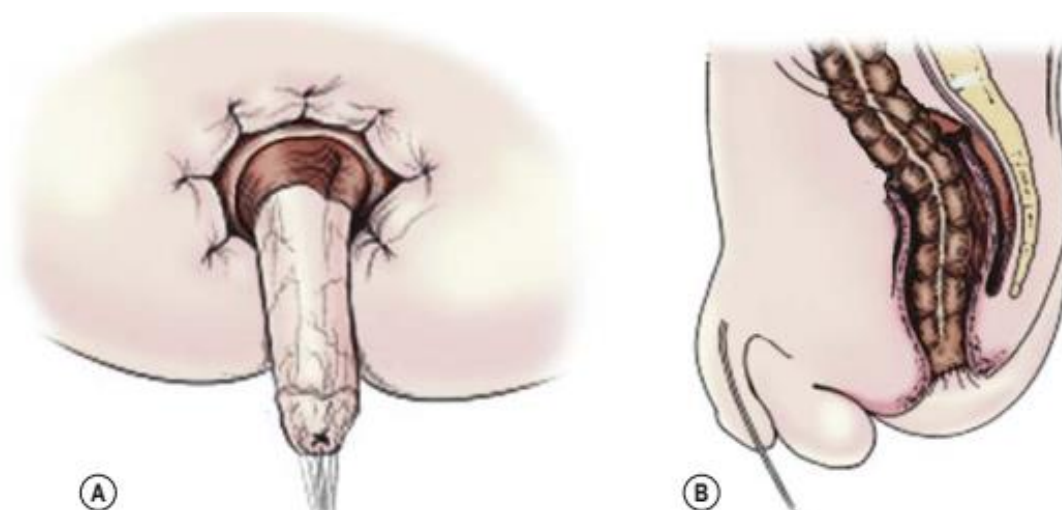
Insiden komplikasi setelah prosedur Duhamel terjadi kebocoran anastomosis, nekrosis dan striktur (Elsherbeny and Abdelhay, 2019). Mayoritas kematian pasca operasi terkait dengan enterokolitis. Gejala untuk menentukan enterokolitis terkait penyakit *Hirschsprung* termasuk diare, perut kembung, nyeri kolik, sepsis, dan feses berdarah. Onset enterokolitis pasca operasi berhubungan dengan kebocoran anastomosis, striktur, dan stenosis (Parahita *et al.*, 2018).

Konstipasi dan impaksi feses merupakan masalah setelah prosedur Duhamel karena kapasitas reservoir lebih besar yang sebagian terdiri dari usus aganglionik.

Konstipasi dilaporkan terjadi pada 5% sampai 8% pasien setelah prosedur Duhamel. Selain itu prosedur Duhamel berpengaruh pada fungsi saluran kemih bagian bawah. Oleh karena itu, direkomendasikan pemeriksaan urodinamik rutin pada anak-anak dengan masalah berkemih pasca operasi.

3. Prosedur Soave

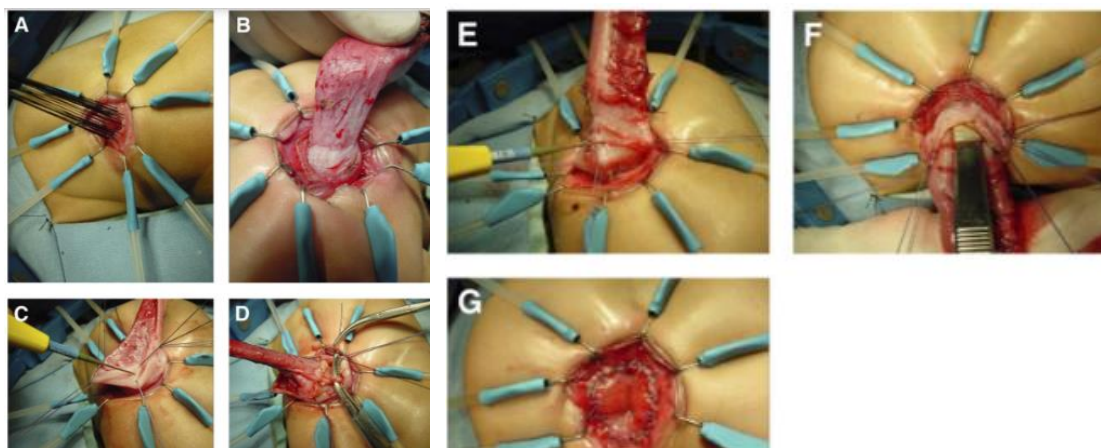
Prosedur ini sebenarnya pertama sekali diperkenalkan Rehbein tahun 1959 untuk tindakan bedah pada malformasi anorektal letak tinggi. Namun oleh Soave tahun 1966 diperkenalkan untuk tindakan bedah definitive Penyakit *Hirschsprung*. Tujuan utama dari prosedur Soave ini adalah membuang mukosa rektum yang aganglionik, kemudian menarik terobos kolon proksimal yang ganglionik masuk kedalam lumen rektum yang telah dikupas tersebut. (Holocomb III *et al.*, 2020)



Gambar 2.20 Teknik Soave (Holocomb III *et al.*, 2020)

Pendekatan transanal memiliki manfaat utama menghindari tindakan intra-abdominal rektum melalui tindakan laparotomi atau laparoskopi. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pendekatan transanal dikaitkan dengan memberikan sedikit rasa sakit, lebih singkat waktu rawat inap, dan hasil kosmetik yang lebih baik daripada open surgery (De La Torre and Langer, 2010).

Teknik transanal untuk anak-anak dengan zona transisi yang proksimal dari kolon sigmoid, biasanya panjangnya tidak cukup panjang untuk menurunkannya tanpa mobilisasi setidaknya usus besar yang turun, dan dalam beberapa kasus fleksura lienalis. Ini dapat dilakukan baik secara laparoskopi atau melalui sayatan umbilikus. Jika zona transisi berada pada atau di proksimal pada fleksura lienalis, biasanya juga perlu untuk membagi pembuluh darah kolik media, meninggalkan sisa pada tepi yang banyak pembuluh darah di sepanjang usus besar, untuk mencapai panjang yang memadai tanpa regangan yang berlebih (De La Torre and Langer, 2010).

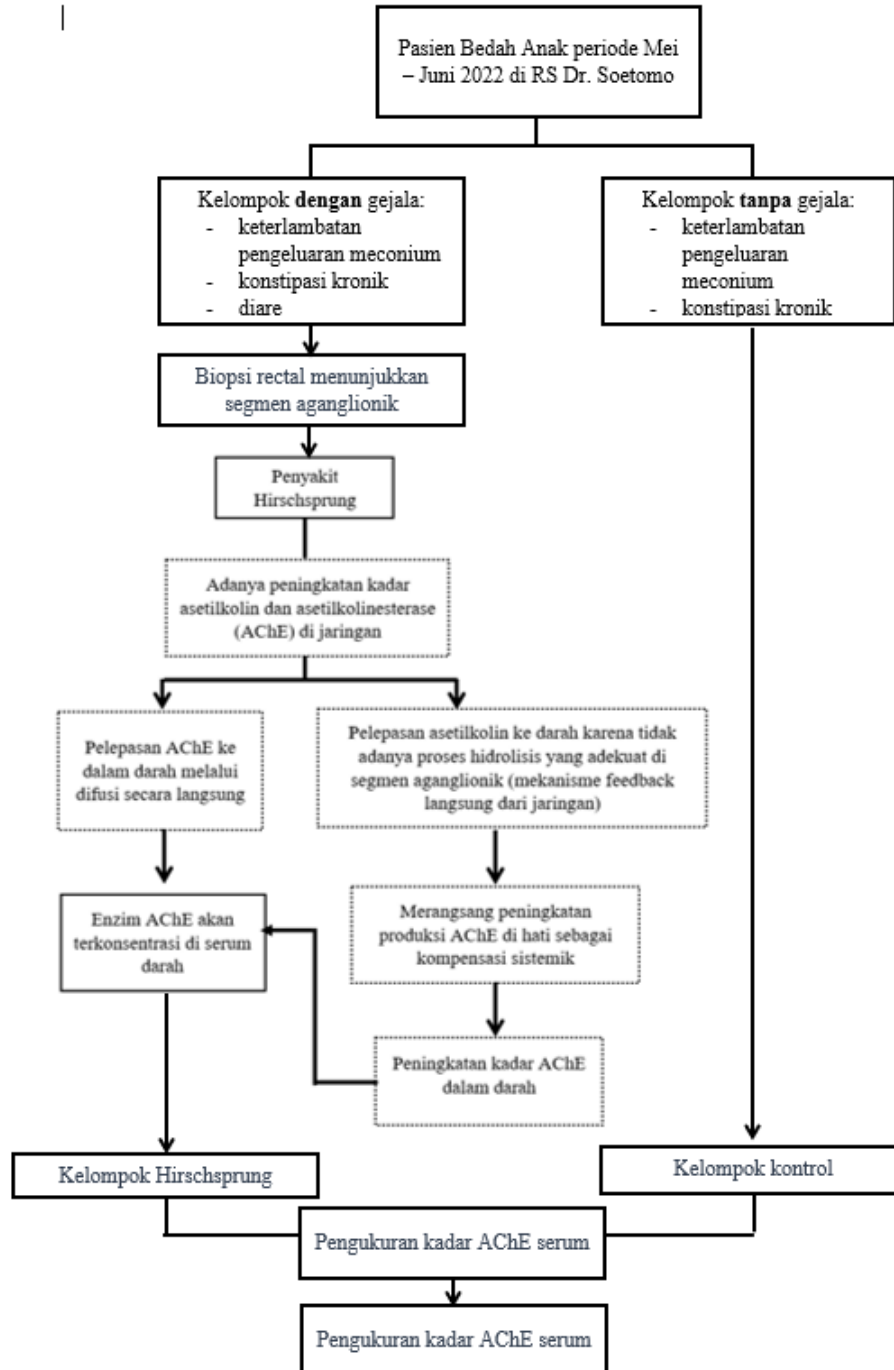


Gambar 2.21 Prosedur Tindakan dengan teknik TAEPT. Teknik yang dilakukan berupa (A) Retraktor digunakan untuk mengekspos linea dentata, dan jahitan dibuat pada beberapa penjuru sebagai tegel/traksi, insisi mukosa 0,5-1 cm di atas linea dentata. (B) Diseksi submukosa (C) Musculus rektal diiris. (D) Pembedahan dilanjutkan di sepanjang bagian luar dinding rektal, mengambil pembuluh darah saat masuk dinding rektal menggunakan kauter atau pengikat. (E) Biopsi telah dilakukan dari rektum yang berdilatasi di atas zona transisi. Biopsi dilakukan dengan diambilnya seluruh lapisan sehingga ahli patologi memiliki kesempatan terbaik untuk membuat diagnosis yang akurat pada pemeriksaan potong beku. (F) Musculus rektal telah dipisah di garis tengah posterior (G) Kolon yang telah dipotong dilakukan anastomosis dengan rektum (De La Torre and Langer, 2010).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual

3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual

Pada penyakit *Hirschsprung*, didapatkan adanya peningkatan kadar AChE di jaringan. Terdapat beberapa hipotesis yang membahas mengenai mekanisme peningkatan kadar AChE sehingga dapat terdeteksi di darah. Pertama, melalui pelepasan AChE secara langsung dari jaringan ke darah. Enzim AChE akan terkonsentrasi pada serum darah. Kedua, melalui pelepasan neurotransmitter asetilkolin ke dalam darah dikarenakan tidak adanya proses hidrolisis yang adekuat di segmen aganglionik. Peningkatan asetilkolin akan merangsang hati untuk memproduksi enzim AChE sehingga terjadi peningkatan kadar AChE di dalam darah. Peningkatan kadar AChE pada darah berpotensi untuk digunakan sebagai penanda/ marker untuk membantu penegakan diagnosis penyakit *Hirschsprung*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Kadar asetilkolinesterase darah dapat menjadi alternatif diagnostik pada penyakit *Hirschsprung*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan desain penelitian analitik observasional yang bersifat *cross sectional* untuk mengetahui potensi kadar asetilkolinesterase darah sebagai alat bantu diagnostik penyakit *Hirschsprung* di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

4.2 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah pasien yang terdiagnosa penyakit *Hirschsprung* dan pasien kelompok kontrol yang tidak memiliki gejala pada saluran gastrointestinal, seperti keterlambatan pengeluaran mekonium, konstipasi, diare, anemia, dan keterlambatan pertumbuhan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah pasien yang terdiagnosa penyakit *Hirschsprung* dan pasien kelompok kontrol yang tidak memiliki gejala pada saluran gastrointestinal, seperti keterlambatan pengeluaran mekonium, konstipasi, diare, anemia, dan keterlambatan pertumbuhan di RSUD Dr. Soetomo Surabaya yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.3.1 Besar sampel

Besar sampel ditentukan dengan rumus penelitian *cross sectional* sebagai berikut :

$$n = (4 p q) / d^2$$

p = perkiraan proporsi dari kasus yang diteliti (5%)

q = $100 - p$

d = presisi yang diinginkan (80%)

maka dengan memasukkan angka – angka pada rumus tersebut didapatkan hasil:

Jumlah total sampel minimal dalam penelitian ini adalah 25 sampel

4.3.2 Pengambilan sampel

Sampel diambil secara *total consecutive sampling* berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi.

4.4 Kriteria Sampel Penelitian

4.4.1 Kriteria inklusi

1. Pasien yang terdiagnosa penyakit *Hirschsprung* dengan pemeriksaan histopatologi dan pasien kelompok kontrol yang tidak memiliki gejala pada saluran gastrointestinal, seperti keterlambatan pengeluaran mekonium, konstipasi, diare, dan keterlambatan pertumbuhan
2. Setuju mengikuti penelitian dengan orang tua menandatangani *informed consent*
3. Usia pasien di atas 3 bulan

4.4.2 Kriteria eksklusi

Tidak setuju mengikuti penelitian

4.5 Variabel Penelitian

Pada penelitian ini variabel penelitian yang diteliti adalah:

1. Kadar asetilkolinesterase darah sebagai variabel bebas/ independen

2. Kejadian penyakit *Hirschsprung* sebagai variabel tergantung/ dependen
3. Variabel perancu berupa:
 - a. Usia
 - b. Jenis kelamin
 - c. Pasien dengan kelainan *gastrointestinal trakt* lain
 - d. Keracunan pestisida golongan organofosfat
 - e. *Total aganglionik bowel*

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi operasional penelitian

No	Variabel	Definisi Operasional	Metode Pengukuran	Skala
1.	Asetilkolinesterase	Adalah neurotransmitter utama pada SSE. Saraf kolinergik meningkatkan aktivitas usus seperti kontraksi, dan berhubungan dengan transportasi ion mukosa. Aktivitas AChE merupakan penanda umum dari saraf kolinergik dan digunakan secara luas untuk mendiagnosis penyakit <i>Hirschsprung</i> . Kadar AChE yang akan diperiksa dalam penelitian ini adalah kadar AChE yang terkonsentrasi di serum. Pasien kelompok kontrol tanpa	Pemeriksaan kadar dalam darah di Departemen/ SMF Patologi Klinik FK Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo	Rasio

		gangguan <i>GI track</i> dianggap memiliki kadar AChE normal. Satuan unit yang digunakan adalah Unit/mL		
2.	Penyakit <i>Hirschsprung</i>	Adalah suatu kelainan bawaan berupa aganglionosis usus, mulai dari sfingter anal internal ke arah proximal sampai panjang segmen tertentu, tetapi selalu termasuk anus dan setidak-tidaknya sebagian rectum (Kartono, 2003)	Ditemukan adanya sel aganglionik pada pemeriksaan histopatologi <i>full thickness biopsy</i>	Nominal
2.	Usia	Adalah jumlah hari, bulan, tahun dari pasien sejak lahir hingga waktu tertentu. Pada penelitian ini peneliti mengelompokkan pasien mulai berdasarkan kelompok usia.	Menghitung berdasarkan tanggal lahir dari sampel penelitian	Rasio
3.	Jenis Kelamin	Membedakan antara laki-laki dan perempuan	Ditentukan jenis kelamin sampel pasien	Nominal

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pengumpulan data

Pasien dengan penyakit *Hirschsprung* yang akan menjalani operasi definitif dan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi penelitian akan diberikan penjelasan mengenai tujuan dan manfaat dari pemeriksaan, serta diminta persetujuan untuk ikut sebagai sampel penelitian dengan menandatangani *informed to consent* dan *informed consent*. Selanjutnya dilakukan pengumpulan data umum dari subyek

penelitian seperti nama, umur, jenis kelamin, alamat, dan nomor telepon yang dapat dihubungi. Subyek penelitian akan dilakukan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan variabel bebas sebelum menjalani operasi definitif.

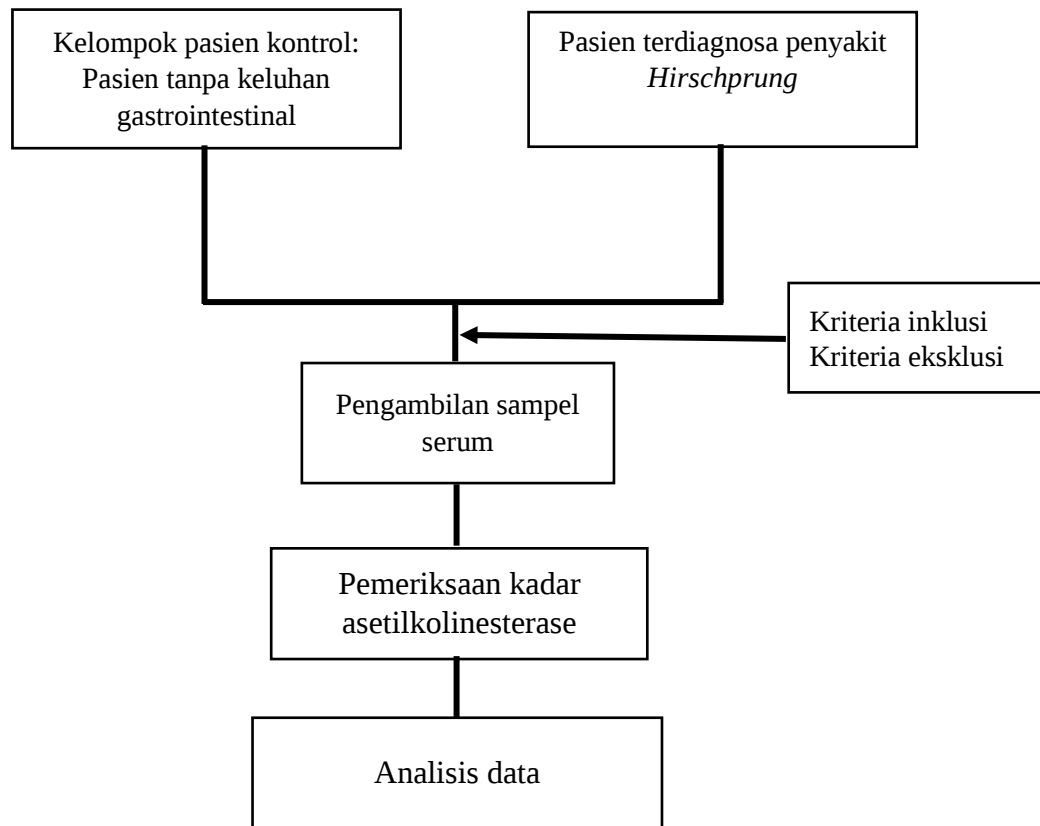
4.7.2 Pengukuran kadar AChE pada sampel serum

Acetylcholinesterase (AChE) adalah neurotransmitter utama dalam sistem saraf enteral. Kadar AChE yang diperiksa dalam penelitian ini adalah kadar AChE yang terkonsentrasi dalam serum. Kami mengukur tingkat AChE dalam sampel serum menggunakan enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Kami mengukur tingkat AChE menggunakan kit yang tersedia secara komersial (kit ELISA Human Acetylcholinesterase; Laboratorium Teknologi Bioassay) mengikuti instruksi pabrik. Satuan unit yang digunakan adalah Unit/mL.

4.7.3 Analisis data

Setelah terkumpul data yang didapatkan, pengelolaan data dilakukan menggunakan program SPSS. Data dari variabel independen dan dependen yang didapatkan berupa data nominal dan akan diuji menggunakan uji *Chi-Square Test*. Analisis *receiver operating characteristics* (ROC) digunakan untuk menentukan nilai *cut-off value*. Performa kadar AChE untuk mendiagnosis *Hirschsprung* akan dievaluasi dengan menghitung nilai sensitivitas, spesifisitas, nilai prediksi positif (*positive predictive value*), nilai prediksi negatif (*negative predictive value*), dan akurasi.

4.8 Kerangka Operasional



Gambar 4.1 Kerangka operasional

4.9 Lokasi, Waktu dan Jadwal Penelitian

4.9.1 Lokasi penelitian

Lokasi penelitian adalah Departemen/SMF Bedah Anak dan Departemen/SMF Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.

4.9.2 Waktu penelitian

Penelitian dilakukan selama enam bulan mulai bulan November 2021 – Juni 2022.

Tabel 4.2 Waktu Penelitian

Kegiatan	Nov 2021	Des 2021	Jan 2022	Feb 2022	Mar 2022	Apr 2022	Mei 2022	Jun 2022
Penyusunan Proposal								
Pengurusan Laik Etik								
Pelaksanaan Penelitian								
Analisa Data								
Penyusunan Karya Akhir								

4.10 Biaya Penelitian

Subyek penelitian tidak dibebani biaya penelitian. Perkiraan biaya yang akan dikeluarkan adalah sebagai berikut:

1. Penyusunan proposal dan hasil penelitian	Rp. 3.000.000,-
2. Biaya tak terduga	Rp. 2.000.000,-
3. KIT ELISA AChE	Rp. 8.500.000,-
Total	Rp. 13.500.000,-

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Deskripsi Data Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan desain *cross sectional* untuk membandingkan kadar AChE serum pada pasien yang menderita penyakit Hirschsprung di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pada penelitian ini subjek penelitian dibuat menjadi dua grup yang berbeda. Grup pertama merupakan grup yang terdiri dari pasien dengan penyakit Hirschsprung, sedangkan grup kedua merupakan grup kontrol (*control group*). Kontrol grup terdiri dari subjek yang tidak menderita penyakit Hirschsprung. Subjek pada grup kontrol merupakan pasien dengan tanpa tanda dan gejala penyakit Hirschsprung. Pengambilan sampel dilakukan secara *consecutive sampling* pada periode bulan Mei 2022 hingga Juni 2022. Dari penelitian ini didapatkan total 29 sampel yang memenuhi kriteria inklusi.

5.2 Karakteristik Demografis Subjek Penelitian

Peneliti menganalisis data demografis subjek penelitian ini. Sebanyak 29 orang pasien dimasukkan dalam penelitian ini, dan terbagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama yaitu kelompok Hirschsprung terdiri dari 12 pasien yang terkonfirmasi menderita penyakit Hirschsprung melalui hasil *suction biopsy*. Sedangkan kelompok kedua merupakan kelompok pasien kontrol. Dalam penelitian ini terdapat 20 orang laki-laki (20/29; 69.0%) dan terdapat 9 orang perempuan (9/29; 31.0%). Dari keseluruhan pasien laki-laki, terdapat 9 orang pasien dengan Hirschsprung (9/20; 45.0%) dan 11 orang yang tidak menderita penyakit

Hirschsprung (11/20; 55.0%). Sedangkan dari semua pasien perempuan, mayoritas masuk ke dalam kelompok kontrol (6/9; 66.7%).

Berdasarkan aspek usia, didapatkan usia rata-rata pasien pada kelompok Hirschsprung adalah 50.33 ± 62.18 bulan, sedangkan rata-rata pasien pada kelompok kontrol adalah 47.12 ± 23.23 bulan. Rentang usia subjek penelitian pada kelompok dengan penyakit Hirschsprung adalah 3 – 216 bulan. Rentang usia pada kelompok kontrol adalah 6 – 104 bulan. Nilai median usia kelompok Hirschsprung adalah 27.5 bulan dan nilai median pada kelompok kontrol adalah 46 bulan. Data demografis subjek penelitian ditampilkan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Karakteristik demografis subjek penelitian

Data demografis	Group	
	Hirschsprung	Control
Sex		
Male ($n = 20$)	9 (45.0%)	11 (55.0%)
Female ($n = 9$)	3 (33.3%)	6 (66.7%)
Age		
Minimum	3 months	6 months
Maximum	216 months	104 months
Average	50.33 months	47.12 months
Median	27.5 months	46 months
SD	62.18 months	23.23 months

5.3 Kadar AChE pada Subjek Penelitian

Peneliti menganalisis profil dari kadar AChE serum pada subjek penelitian. Pada kelompok dengan penyakit Hirschsprung, didapatkan bahwa kadar rata-rata dari AChE adalah 95.89 ± 51.11 Unit/mL. Nilai median pada kelompok tersebut adalah 87.93 Unit/mL. Rentang kadar AChE pada kelompok dengan penyakit Hirschsprung adalah 27.43 – 204.93 Unit/mL. Sedangkan pada kelompok kontrol,

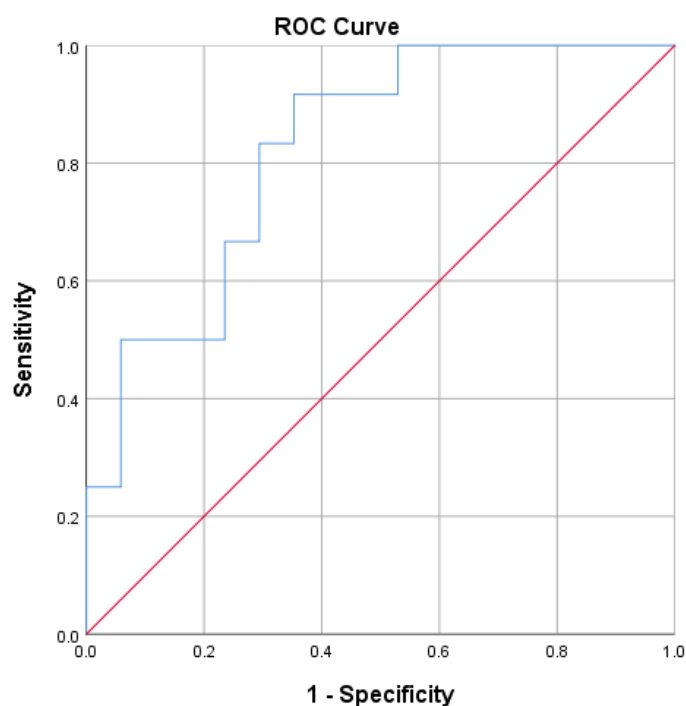
didapatkan bahwa kadar rata-rata dari AChE adalah 44.45 ± 33.40 Unit/mL. Nilai median pada kelompok tersebut adalah 29.75 Unit/mL. Rentang kadar AChE pada kelompok dengan penyakit Hirschsprung adalah 10.46 – 97.57 Unit/mL. Hasil analisis statistic didapatkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara distribusi kadar nilai AChE pada kelompok Hirschsprung dan kelompok kontrol ($P = 0.003$). Distribusi kadar AChE pada kelompok Hirschsprung didapatkan lebih tinggi daripada kadar AChE pada kelompok kontrol. Kadar AChE pada subjek penelitian ditampilkan di Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Kadar AChE pada subjek penelitian

Serum AChE level	Group	
	Hirschsprung	Control
Minimum	27.43	10.46
Maximum	204.93	97.57
Average	95.89	44.45
Median	87.93	29.75
SD	51.11	33.40

5.4 Penentuan Cutoff Menggunakan Analisis ROC

Penentuan cutoff optimal untuk menentukan diagnosis Hirschsprung dilakukan menggunakan analisis ROC (Gambar 5.1). Dengan menggunakan analisis ROC, didapatkan kurva ROC dengan nilai area under the curve (AUC) sebesar 0.824 (confidence interval 95% antara 0.674 – 0.973) dan nilai P value = 0.003. Dari kurva tersebut didapatkan bahwa nilai cutoff optimal adalah sebesar 46.615 Unit/mL.



Gambar 5.1 Kurva ROC untuk menentukan nilai cutoff optimal

5.5 Hubungan Kadar AChE dengan penyakit Hirschsprung

Pada analisis ini subjek penelitian dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu kelompok dengan kadar AChE serum tinggi dan AChE serum rendah (Tabel 5.3). Penentuan kelompok dilakukan berdasarkan nilai cutoff optimal yang didapatkan dengan analisis ROC.

Dengan nilai cutoff 46.615, didapatkan terdapat 14 pasien dengan kadar AChE serum rendah (14/29; 48.3%) dan 15 pasien dengan kadar AChE serum tinggi (15/29; 51.7%). Pada kelompok pasien dengan kadar AChE serum tinggi didapatkan 10 pasien menderita penyakit Hirschsprung (10/15; 66.7%) dan 5 pasien masuk pada kelompok kontrol (5/15; 33.3%). Sebaliknya, pada kelompok pasien dengan kadar AChE rendah menunjukkan persentase yang lebih rendah pada kelompok dengan penyakit Hirschsprung dibandingkan pada kelompok kontrol (Hirschsprung: 2/14; 14.3% vs. kontrol: 12/14; 85.7%). Analisis statistic

menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara kadar AChE pada serum dan penyakit Hirschsprung ($P = 0.004$).

Lebih jauh, peneliti menganalisis performa dari kadar AChE serum sebagai suatu modalitas diagnostik yang ditunjukkan melalui beberapa parameter diagnostic, yaitu nilai sensitivitas, spesifisitas, *positive predictive value*, *negative predictive value*, dan akurasi. Kami mendapatkan bahwa nilai sensitivitas, spesifisitas, *positive predictive value*, *negative predictive value*, dan akurasi dalam penelitian ini adalah 83,3%, 70,6%, 66,7%, 85,7%, dan 75,9%, secara berurutan.

Tabel 5.3 Hubungan kadar AChE dengan penyakit Hirschsprung

AChE group	Total <i>n</i>	Group		P value
		Hirschsprung	Kontrol	
Low	14	2 (14.3%)	12 (85.7%)	0.004
High	15	10 (66.7%)	5 (33.3%)	

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang bertujuan untuk menganalisis hubungan kadar AChE serum dengan kejadian penyakit Hirschsprung. Penyakit Hirschsprung sendiri merupakan suatu kelainan kongenital yang ditandai dengan adanya segmen aganglionik pada usus. Pemeriksaan yang menjadi *gold standard* untuk diagnosis penyakit Hirschsprung adalah pemeriksaan histopatologi, dimana harus didapatkan adanya bukti segmen usus aganglionik (Szyberg and Marszałek, 2014; Ambartsumyan *et al.*, 2019). Pemeriksaan histopatologi dapat dilakukan pada specimen usus yang diperoleh dari prosedur medis yang cenderung bersifat invasive, seperti *full thickness biopsy* dan *suction biopsy* (Muise *et al.*, 2016; Ambartsumyan *et al.*, 2019). Walau tergolong minimal invasive, namun tindakan *suction biopsy* yang dilakukan pada pasien anak tetap memerlukan prosedur pembiusan. Oleh karena itu, proses yang dilalui untuk memperoleh spesimen histopatologi bukanlah hal yang mudah dan tetap memiliki risiko prosedur medis.

Penggunaan asetilkolinesterase sebagai dasar diagnostik pada penyakit Hirschsprung didasari oleh fakta dimana terdapat serabut saraf kolinergik yang dominan pada pasien Hirschsprung dan serabut saraf tersebut mengandung peningkatan jumlah ekspresi AChE (Agrawal *et al.*, 2015). Adanya AChE inilah yang dapat dilakukan suatu pewarnaan dengan metode imunohistokimia (Moore and Johnson, 2005). Namun, berbagai penelitian di seluruh dunia juga telah menunjukkan bahwa peningkatan kadar AChE tidak hanya didapatkan pada spesimen usus aganglionik saja, namun juga didapatkan pada darah, baik di serum

maupun eritrosit (Boston *et al.*, 1978). Hal inilah yang mendasari peneliti melakukan pemeriksaan kadar AChE pada serum pasien dengan penyakit Hirschsprung di RS dr Soetomo Surabaya. Hal ini didukung oleh fakta dimana penelitian terkait perhitungan kadar AChE pada pasien Hirschsprung di Indonesia masih sangat terbatas.

Pada penelitian ini peneliti mengumpulkan sampel dari pasien dengan penyakit Hirschsprung yang telah dikonfirmasi dengan menggunakan pemeriksaan *Histopatologi* dan sampel dari pasien tanpa penyakit Hirschsprung yang berperan sebagai kelompok kontrol. Peneliti menggunakan analisis ROC untuk menentukan nilai cutoff yang paling optimal untuk dapat menghasilkan nilai akurasi yang paling baik. Kami menemukan bahwa kadar AChE di serum merupakan suatu metode diagnostic yang potensial untuk membantu diagnosis penyakit Hirschsprung, ditandai dengan nilai AUC sebesar 0,824 dan nilai cutoff 46.615 Unit/mL. Nilai cutoff ini merupakan nilai cutoff yang paling optimal di populasi yang kami teliti, sehingga analisis kami selanjutnya akan menggunakan nilai cutoff tersebut. Namun, perlu diingat bahwa nilai cutoff AChE optimal pada studi ini mungkin belum cukup untuk dapat digunakan sebagai nilai cutoff untuk diagnosis penyakit Hirschsprung di Indonesia secara umum. Hal ini dikarenakan penelitian ini hanya dilakukan di RS Dr. Soetomo dengan pasien yang ada di satu rumah sakit. Perlu dilakukan validasi di populasi lain apabila kadar AChE dalam serum akan digunakan di populasi lain. Sebagai tambahan, untuk dapat memperoleh nilai cutoff yang dapat digunakan di Indonesia, perlu untuk dilakukan studi *multicenter* yang dilakukan di berbagai tempat di Indonesia agar dapat memperoleh sampel penelitian yang dapat merepresentasikan populasi Indonesia secara umum.

Setelah membagi sampel menjadi dua kelompok menggunakan nilai cutoff, kami mendapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara pengelompokan kadar AChE dengan kejadian penyakit Hirschsprung. Hal ini menunjukkan bahwa kadar AChE pada serum dapat digunakan sebagai modalitas diagnostik untuk membedakan antara pasien yang menderita penyakit Hirschsprung dan pasien normal dengan nilai akurasi yang relatif tinggi. Hasil yang didapatkan pada penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang juga melaporkan bahwa kadar AChE pada serum pasien Hirschsprung lebih tinggi dibandingkan kadar AChE pada subjek yang tidak terdiagnosa Hirschsprung (She *et al.*, 1984). Studi lain menunjukkan bahwa pengukuran kadar AChE pada sampel serum pasien merupakan pemeriksaan yang mudah dilakukan, relatif murah, dan bersifat non-invasif. Hal ini mendukung penggunaan kadar AChE dalam serum sebagai parameter diagnostik Hirschsprung yang potensial, terutama untuk digunakan di pusat kesehatan dengan fasilitas yang terbatas.

Berdasarkan aspek jenis kelamin, kami menemukan bahwa prevalensi penyakit Hirschsprung lebih tinggi pada laki-laki daripada perempuan. Penyakit Hirschsprung merupakan suatu kelainan kongenitas yang secara epidemiologis ditemukan lebih tinggi prevalensinya pada laki-laki dibandingkan pada perempuan. Oleh karena itu, hasil pada penelitian kami sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa jenis kelamin laki-laki memiliki prevalensi penyakit Hirschsprung yang lebih tinggi. Penyakit Hirschsprung dilaporkan menyerang pria 3 – 4 kali lebih tinggi daripada wanita (Jannot *et al.*, 2012; Granéli *et al.*, 2017).

Usia merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhitungkan dalam penelitian ini. Dalam penelitian ini, kami mengeksklusi pasien dengan umur di bawah 3 bulan. Hal ini disebabkan karena pada pasien dengan usia di bawah 3 bulan berpotensi untuk didapatkan hasil positif palsu. AChE merupakan substansi yang sangat penting bagi bayi di awal masa kehidupan untuk mendorong terjadinya adhesi sel dan neuritogenesis pada sistem saraf enterik yang sedang berkembang. Oleh karena itu, pada awal usia kehidupan, kadar AChE yang tinggi merupakan hal yang lazim ditemukan. Hal inilah yang menyebabkan penggunaan kadar AChE dalam darah sebagai suatu parameter diagnostik penyakit Hirschsprung harus dilakukan dengan hati-hati serta memperhitungkan faktor usia pasien. Dalam penelitian ini juga didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan antara distribusi usia antara kelompok pasien dengan penyakit Hirschsprung dan kelompok kontrol. Hal ini menandakan bahwa usia tidak memiliki hubungan dengan kejadian penyakit Hirschsprung. Hal ini bukan merupakan hal yang mengejutkan, karena penyakit Hirschsprung merupakan suatu kelainan bawaan, sehingga usia ketika saat diagnosis bukan menjadi suatu variabel yang berhubungan dengan patofisiologi penyakit Hirschsprung.

Dalam penelitian ini, performa AChE sebagai alat bantu diagnosis penyakit Hirschsprung preoperative diukur dengan menghitung beberapa parameter diagnostik, yaitu sensitivitas, spesifisitas, *positive predictive value*, *negative predictive value*, dan akurasi. Dalam penelitian ini kami mendapatkan nilai sensitivitas sebesar 83,3%. Angka sensitivitas ini menunjukkan bahwa terdapat 83,3% subjek penelitian yang dengan kadar AChE tinggi yang mengalami penyakit Hirschsprung. Angka ini merupakan angka yang relatif tinggi. Angka sensitivitas

merupakan komponen yang sangat penting bagi suatu tes yang bertujuan untuk fungsi skrining. Dalam hal ini, dengan nilai sensitivitas yang tinggi, klinisi dapat menyaring sebanyak mungkin pasien yang dicurigai menderita penyakit Hirschsprung. Hal ini dapat membantu klinisi untuk meningkatkan kewaspadaan terhadap penyakit Hirschsprung dan mendukung dilakukannya pemeriksaan histopatologi lebih lanjut. Pada studi ini terdapat 2 pasien *false negative*. Hal ini dapat disebabkan oleh fakta bahwa kadar AChE dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor sistemik yang juga dapat mempengaruhi kadar AChE (Boston *et al.*, 1978). Selain itu hal ini juga dapat disebabkan oleh perbedaan panjang segmen aganglionik pada pasien. Pasien dengan *short segment aganglionic* memungkinkan ekspresi AChE yang lebih rendah dibandingkan pasien dengan lesi yang lebih Panjang. Sehingga peningkatan kadar AChE serum mungkin tidak signifikan. Sedangkan nilai spesifisitas pada penelitian ini adalah sebesar 70,6%. Angka spesifisitas ini menunjukkan bahwa terdapat 70,6% subjek penelitian yang dengan kadar AChE rendah yang tidak mengalami penyakit Hirschsprung. Nilai spesifisitas yang tinggi menunjukkan kemampuan suatu tes untuk mengkonfirmasi suatu diagnosis atau *outcome* pada pasien. Walau tidak setinggi nilai sensitivitas, namun nilai spesifisitas pada penelitian ini relatif cukup tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa kadar AChE pada serum tergolong cukup spesifik untuk mendiagnosis penyakit Hirschsprung. Sedangkan nilai akurasi merupakan persentase dari akumulasi subjek dengan kadar AChE tinggi yang mengalami Hirschsprung (*true positive*) dan subjek dengan kadar AChE rendah yang tidak mengalami Hirschsprung (*true negative*). Nilai performa diagnostik dari kadar AChE pada serum menunjukkan nilai yang sebanding atau bahkan lebih baik dari performa diagnostik dari kadar

AChE darah yang sebelumnya telah dilaporkan. Chalkoo et al. melaporkan bahwa kadar AChE pada darah memiliki nilai sensitivitas, spesifisitas, PPV, NPV, dan akurasi sebesar 84,6%, 75%, 95,6%, 42,9%, dan 66,7% secara berurutan (Chalkoo *et al.*, 2013). Sehingga dapat dibandingkan dengan hasil pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa penggunaan kadar AChE serum memiliki performa yang lebih baik.

Peneliti menyadari bahwa terdapat beberapa limitasi dalam penelitian ini. Pertama, jumlah sampel penelitian yang relatif kecil. Penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar diperlukan untuk dapat memberikan data yang lebih akurat. Kedua, penelitian ini dilakukan di satu buah pusat kesehatan, sehingga hasil penelitian ini mungkin tidak dapat digunakan untuk merepresentasikan keadaan di seluruh populasi di Indonesia secara umum. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melibatkan berbagai pusat kesehatan di seluruh Indonesia, sehingga hasil yang didapatkan dapat memberikan gambaran yang lebih akurat mengenai aplikasi diagnostik dari AChE untuk pasien dengan penyakit Hirschsprung di Indonesia. Ketiga, pada penelitian ini kadar AChE hanya diukur pada spesimen serum darah dan tidak dilakukan pengukuran kadar AChE pada segmen aganglionik. Sehingga, hasil pengukuran pada penelitian ini tidak memiliki pembanding kadar AChE yang didapatkan pada spesimen selain serum darah. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk membandingkan kadar AChE pada sampel serum darah dan kadar AChE yang didapat pada spesimen lain, seperti jaringan segmen aganglionik atau pada eritrosit darah.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Kadar AChE pada serum darah dapat menjadi alternatif untuk mendiagnosa penyakit Hirschsprung. Pasien dengan penyakit Hirschsprung memiliki kadar AChE dalam serum yang lebih tinggi daripada pasien yang tidak menderita penyakit Hirschsprung.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan jumlah sampel yang lebih besar untuk dapat memberikan data yang lebih akurat.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melibatkan berbagai pusat kesehatan di seluruh Indonesia, sehingga hasil yang didapatkan dapat memberikan gambaran yang lebih akurat mengenai aplikasi diagnostik dari AChE untuk pasien dengan penyakit Hirschsprung di populasi Indonesia.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meneliti hubungan antara panjang segmen aganglionik terhadap kadar AChE di dalam serum.

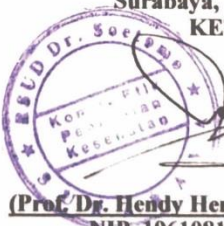
DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, R. K., Kakkar, N., Vasishta, R. K., Kumari, V., Samujh, R. and Rao, K. L. N. 2015 'Acetylcholinesterase histochemistry (AChE)--A helpful technique in the diagnosis and in aiding the operative procedures of Hirschsprung disease.', *Diagnostic pathology*, Vol. 10 , p. 208. doi: 10.1186/s13000-015-0443-5.
- Ambartsumyan, L., Smith, C. and Kapur, R. P. 2019 'Diagnosis of Hirschsprung Disease', *Pediatric and Developmental Pathology*, Vol. 23 No. 1, pp. 8–22. doi: 10.1177/1093526619892351.
- Arrieta, D. E., McCurdy, S. A., Henderson, J. D., Lefkowitz, L. J., Reitstetter, R. and Wilson, B. W. 2009 'Normal range of human red blood cell acetylcholinesterase activity.', *Drug and chemical toxicology*, Vol. 32 No. 3, pp. 182–185. doi: 10.1080/01480540902863440.
- Atias, O., Finaly, R., Meyerstein, N. and Mares, A. J. 1991 'Erythrocyte acetylcholinesterase activity in Hirschsprung's disease in Israel.', *Journal of pediatric surgery*, Vol. 26 No. 2, pp. 190–191. doi: 10.1016/0022-3468(91)90907-b.
- Bamigbola, K. T., Nasir, A. A., Abdur-Rahman, L. O., Oyinloye, A. O., Abdulraheem, N. T. and Adeniran, J. O. 2014 'Experience with full-thickness rectal biopsy in the evaluation of patients with suspected Hirschsprung's disease', *Annals of Pediatric Surgery*, Vol. 10 No. 2, pp. 42–45. doi: 10.1097/01.XPS.0000445130.82852.0D.
- Bjørn, N., Rasmussen, L., Qvist, N., Detlefsen, S. and Ellebæk, M. B. 2018 'Full-thickness rectal biopsy in children suspicious for Hirschsprung's disease is safe and yields a low number of insufficient biopsies', *Journal of Pediatric Surgery*, Vol. 53 No. 10, pp. 1942–1944. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.01.005.
- Boston, V. E., Cywes, S. and Davies, M. R. 1978 'Serum and erythrocyte acetylcholinesterase activity in Hirschsprung's disease.', *Journal of pediatric surgery*, Vol. 13 No. 4, pp. 407–410. doi: 10.1016/s0022-3468(78)80465-5.
- Brunnicardi, F. C. et al 2019 *Schwartz's Principles of Surgery Eleventh Edition*. Eleventh. New York.
- Chalkoo, M. A., Rashid, A., Kakroo, S. M., Razvi, S. A. and Wani, A. A. 2013 'Role of Erythrocyte Acetylcholinesterase in the Diagnosis of Hirschsprung's Disease', Vol. 3 No. 2, pp. 79–82.
- Chia, S. T., Chen, S. C. C., Lu, C. L., Sheu, S. M. and Kuo, H. C. 2016 'Epidemiology of Hirschsprung's Disease in Taiwanese Children: A 13-year Nationwide Population-based Study', *Pediatrics and Neonatology*, Vol. 57 No. 3, pp. 201–206. doi: 10.1016/j.pedneo.2015.04.016.
- Davenport, M., Geiger, J. D., Hall, N. J. and Rothenberg, S. 2020 *Rob & Smith's Operative Pediatric Surgery*. Eight Edit. Edited by P. Wilson, A. Wadmore,

- and A. Williams. Colorado: CRC Press.
- Elsherbeny, M. and Abdelhay, S. 2019 'Obstructive complications after pull-through for Hirschsprung's disease: different causes and tailored management', *Annals of Pediatric Surgery*, Vol. 15 No. 1, p. 2. doi: 10.1186/s43159-019-0003-y.
- Granéli, C., Dahlin, E., Börjesson, A., Arnbjörnsson, E. and Stenström, P. 2017 'Diagnosis, Symptoms, and Outcomes of Hirschsprung's Disease from the Perspective of Gender', *Surgery Research and Practice*, Vol. 2017, pp. 1–8. doi: 10.1155/2017/9274940.
- Holcomb III, G. W., Murphy, J. P. and St Peter, S. D. 2020 *Holcomb and Ashcraft's Pediatric Surgery*. Seventh. London: Elsevier Inc.
- Holschneider, A. M. and Puri, P. 2008 *Hirschsprung's disease and allied disorders, Hirschsprung's Disease and Allied Disorders*. doi: 10.1007/978-3-540-33935-9.
- Jannot, A.-S., Amiel, J., Pelet, A., Lantieri, F., Fernandez, R. M., Verheij, J. B. G. M., Garcia-Barcelo, M., Arnold, S., Ceccherini, I., Borrego, S., Hofstra, R. M. W., Tam, P. K. H., Munnich, A., Chakravarti, A., Clerget-Darpoux, F. and Lyonnet, S. 2012 'Male and female differential reproductive rate could explain parental transmission asymmetry of mutation origin in Hirschsprung disease.', *European journal of human genetics : EJHG*, Vol. 20 No. 9, pp. 917–920. doi: 10.1038/ejhg.2012.35.
- Kartono, D. 2003 *Penyakit Hirschsprung*. Pertama. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kuvelkar, N., D'Souza, S., Vidhyashree, K., Shankar, G., Bukel, M., Noronha, S. and Kini, U. 2021 'Estimation of plasma and RBC acetylcholinesterase in children: An evaluation tool for Hirschsprung's disease?', *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, Vol. 64 No. 2, pp. 266–276. doi: 10.4103/IJPM.IJPM_567_19.
- De La Torre, L. and Langer, J. C. 2010 'Transanal endorectal pull-through for Hirschsprung disease: technique, controversies, pearls, pitfalls, and an organized approach to the management of postoperative obstructive symptoms', *Seminars in Pediatric Surgery*, Vol. 19 No. 2, pp. 96–106. doi: 10.1053/j.sempedsurg.2009.11.016.
- Langer, J. C. 2012 'Hirschsprung Disease', in *Coran Pediatric Surgery*. 7th edn. Elsevier Inc., pp. 1265–1278. doi: 10.1016/B978-0-323-07255-7.00091-X.
- Langer, J. C. 2020 'Hirschsprung Disease', in *Holcomb and Ashcraft's Pediatric Surgery*. Seventh Ed. Elsevier Inc, pp. 581–573.
- Lee, J. D. and Woodruff, T. M. 2021 'The emerging role of complement in neuromuscular disorders.', *Seminars in immunopathology*, Vol. 43 No. 6, pp. 817–828. doi: 10.1007/s00281-021-00895-4.
- Moore, S. W. and Johnson, G. 2005 'Acetylcholinesterase in Hirschsprung's disease.', *Pediatric surgery international*, Vol. 21 No. 4, pp. 255–263. doi: 10.1007/s00383-005-1383-z.

- Muise, E. D., Hardee, S., Morotti, R. A. and Cowles, R. A. 2016 'A comparison of suction and full-thickness rectal biopsy in children', *Journal of Surgical Research*, Vol. 201 No. 1, pp. 149–155. doi: 10.1016/j.jss.2015.10.031.
- Okasora, T., Okamoto, E., Kuwata, K., Toyosaka, A., Ohashi, S. and Ueki, S. 1983 'Serum and Erythrocyte Acetylcholine Esterase in Hirschsprung's Disease', No. 1, pp. 298–300.
- Oue, T., Yoneda, A., Shima, H. and Puri, P. 2000 'Muscarinic acetylcholine receptor expression in aganglionic bowel.', *Pediatric surgery international*, Vol. 16 No. 4, pp. 267–271. doi: 10.1007/s003830050742.
- Parahita, I. G., Makhmudi, A. and Gunadi 2018 'Comparison of Hirschsprung-associated enterocolitis following Soave and Duhamel procedures.', *Journal of pediatric surgery*, Vol. 53 No. 7, pp. 1351–1354. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2017.07.010.
- Russell, M. B., Russell, C. A. and Niebuhr, E. 1994 'An epidemiological study of Hirschsprung's disease and additional anomalies', *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, Vol. 83 No. 1, pp. 68–71. doi: 10.1111/j.1651-2227.1994.tb12955.x.
- Saldanha, C. 2017 'Human Erythrocyte Acetylcholinesterase in Health and Disease'. doi: 10.3390/molecules22091499.
- She, Y. X., Shi, C. R., Chen, J. Z. and Wu, Y. L. 1984 'Observation on erythrocyte acetylcholinesterase (AChE) in infants and children with Hirschsprung's disease.', *Journal of pediatric surgery*, Vol. 19 No. 3, pp. 281–284. doi: 10.1016/s0022-3468(84)80187-6.
- Spitz, L. and Coran, A. 2013 *Operative Pediatric Surgery, Seventh Edition*.
- Szylberg, L. and Marszałek, A. 2014 'Diagnosis of Hirschsprung's disease with particular emphasis on histopathology. A systematic review of current literature.', *Przegląd gastroenterologiczny*, Vol. 9 No. 5, pp. 264–269. doi: 10.5114/pg.2014.46160.
- Townsend, et al 2017 *Sabiston Textbook of Surgery The Biological Basis of Modern Surgical Basis*. 20th edn. Edited by C. B. et al Aarons. New York: Elsevier Inc.
- Uppasani, A. and England, R. 2019 'Trust Guideline for Management Hirschsprungs Disease in Neonates', *Norfolk and Norwich University Hospitals*, Vol. 3, pp. 1–18.
- Wilson, B. W. and Henderson, J. D. 2007 'Determination of cholinesterase in blood and tissue.', *Current protocols in toxicology / editorial board, Mahin D. Maines (editor-in-chief) ... [et al.]*, Vol. Chapter 12, pp. 1–16. doi: 10.1002/0471140856.tx1213s34.
- Yanagihara, J., Iwai, N., Tsuto, T. and Majima, S. 1983 'Acetylcholinesterase activity in rectal mucosa and blood in the diagnosis of Hirschsprung's disease', *The Japanese Journal of Surgery*, Vol. 13 No. 1, pp. 42–48. doi: 10.1007/BF02469689.

Lampiran Kelaikan Etik

	
KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA	
KETERANGAN KELAIKAN ETIK (" ETHICAL CLEARANCE ")	
0418/KEPK/V/2022	
KOMITE ETIK RSUD Dr. SOETOMO SURABAYA TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN JUDUL :	
" KADAR ASETILKOLINESTERASE DARAH SEBAGAI ALTERNATIF DIAGNOSTIK PADA PENYAKIT HIRSCHSPRUNG PREOPERATIF "	
PENELITI UTAMA : Dr. IGB Adria Hariastawa, dr., Sp.B., Sp.BA (K)	
PENELITI LAIN : 1. Iskandar Ali, dr., Sp.B (K) Onk 2. Dennis Chrissandy Wasito, dr	
UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN : RSUD Dr. Soetomo	
DINYATAKAN LAIK ETIK	
 <u>Berlaku dari : 13/05/2022 s.d 13/05/2023</u> <u>Surabaya, 13 Mei 2022</u> KETUA	
  <u>(Prof. Dr. Hendy Hendarto, dr., SpOG (K))</u> <u>NIP. 19610817 201601 6 101</u>	
 <i>*) Sertifikat ini dinyatakan sah apabila telah mendapatkan stempel asli dari Komite Etik Penelitian Kesehatan</i>	

Lampiran Data Penelitian

No	ID	RM	Jenis Kelamin	Usia	Usia dalam bulan	OD	Conc. (IU/mL)
1	Subjek 1	12653569	L	6 tahun 7 bulan	79	0.772	164.74
2	Subjek 2	12783185	L	2 tahun 9 bulan	33	0.298	46.73
3	Subjek 3	12903264	L	18 tahun	216	0.339	54.26
4	Subjek 4	12923823	L	3 bulan	3	0.711	138.99
5	Subjek 5	12923562	L	3 bulan	3	0.867	204.93
6	Subjek 6	12820064	P	3 bulan	3	0.185	27.43
7	Subjek 7	12829945	L	2 tahun 8 bulan	32	0.287	44.79
8	Subjek 8	12899168	L	5 th	60	0.433	72.84
9	Subjek 9	12925131	L	9 bln	9	0.599	108.14
10	Subjek 10	12923063	P	1 th 11 bln	23	0.443	74.92
11	Subjek 11	12919945	L	11 bln	11	0.565	100.94
12	Subjek 12	12007115	P	11 th	132	0.617	112.02
13	Subjek 13	12906404	P	6 bln 29 hari	6	0.531	93.64
14	Subjek 14	12932268	L	4 tahun 1 bl	49	0.296	46.50
15	Subjek 15	12910716	P	8 tahun 8 bl	104	0.150	22.19
16	Subjek 16	12474672	L	7 th 3 bl	87	0.243	36.98
17	Subjek 17	12772060	L	4 th 1 bl	49	0.185	27.32
18	Subjek 18	12936345	L	5 tahun	60	0.127	18.91
19	Subjek 19	12936827	P	5 tahun	60	0.510	89.14
20	Subjek 20	12654973	P	4 thn 9 bln	57	0.654	120.0
21	Subjek 21	12938624	L	2 thn 1 bln	25	0.201	29.75
22	Subjek 22	12710489	L	3 thn 8 bln	44	0.070	10.46
23	Subjek 23	12938648	P	3 th 4 bln	40	0.077	11.58
24	Subjek 24	12938881	L	2 tahun 2 bln	26	0.549	97.57
25	Subjek 25	12922193	L	1 tahun 2 bln	14	0.167	24.69
26	Subjek 26	12705170	L	4 tahun 4 bln	52	0.358	57.62
27	Subjek 27	12934602	L	3 tahun 10 bln	46	0.213	31.44
28	Subjek 28	12755373	L	3 tahun 1 bulan	37	0.152	22.57
29	Subjek 29	12937087	P	3 tahun 9 bulan	45	0.102	15.24