

Efek Pemberian Glutamin terhadap Aktivitas *Sucrase*, *Maltase*, *Lactase* dan Ekspresi *Spectrin*, *Clathrin* dalam Perbaikan Mikrovili Ileum pada Tikus Malnutrisi

(The Effects of Glutamine on Sucrase, Maltase, Lactase Activity and Spectrin, Clathrin Expression in Repairing Microvilli Ileum in Rats Malnutrition)

Roedi Irawan*, Subijanto MS**, Suhartono Taat Putra**, Soetjipto**

ABSTRACT

Glutamine is the most abundant amino acid in the blood and plays a key role of intestinal response to local and systemic injuries such as diarrhea and malnutrition. The purpose of this study was to explain the effect of oral glutamine on sucrase, maltase, lactase enzyme activity and spectrin, clathrin expression also the correlation with ERK-1 and STAT-3 signaling pathways in repairing microvilli ileum intestine in rat malnutrition. The method employed in this study was experimental research, with control samples, measurable and reliable, with the design of the study was post test only group design. showed that twenty growing male rats (aged 12 week) were divided into 4 groups: control, malnutrition, control+glutamine and malnutrition+glutamine. For the first 15 days experiment, animals in the test groups received a karak diet (low calorie diet of dried rice) for the next 15 days. Control and malnutrition groups received either glutamine supplement with the doses 500 mg/kg body weight/day. On the 30th days, the animals were weighed and sacrificed of the intestine was taken and prepared for enzymatic and expression examination. Sucrase activity between malnutrition with malnutrition+glutamine groups there indicated significance ileum ($p = 0.04$). Maltase activity when compared malnutrition with malnutrition+glutamine groups there were significant differences in the ileum ($p = 0.00$). Lactase activity when compared between malnutrition with malnutrition + glutamine groups there were significant differences in ileum ($p = 0.04$). The expression of spectrin and clathrin were evidence enlarge of enterocyte in the normal group after being given glutamine compared to malnutrition group after being fed glutamine, spectrin and clathrin expression appearance on ileum. Spectrin and clathrin molecular weight protein in the ileum with a molecular mass of 130-250 KDa. Relationship between glutamine and meaningful pathway signaling proteins ERK-1 in the ileum ($p = 0.03$) and also significant association between glutamine and STAT-3 in ileum ($p = 0.00$). The research proved that there was an increase activity of sucrase, maltase, lactase, also spectrin and clathrin which have expression differences of each group. There are links between ERK-1 and STAT-3 signaling pathway in the repairing microvilli of rat ileum intestinal damaged by malnutrition and improved after administration of oral glutamine.

Key words: glutamine, sucrase, maltase, lactase, spectrin, clathrin, microvili ileum, malnutrition

PENDAHULUAN

Kerusakan mukosa usus yang diakibatkan oleh malnutrisi akan menimbulkan gangguan mikrovili usus dan menurunnya sistem ketahanan, sehingga mudah terjadi invasi virus/kuman patogen (Mooseker, 1984; Ling, 2003). Bila keadaan ini tidak ditangani dengan baik, maka akan dapat mengakibatkan gangguan pada fungsi absorpsi nutrisi dan kerusakan pada struktur protein penyusun mikrovili sehingga mengakibatkan kekurangan gizi, bahkan sampai bisa terjadi kematian (Mooseker, 1984). Mikrovili usus

banyak terdapat pada usus halus, dan merupakan komponen terpenting dari usus yang berfungsi untuk pengatur enzim pada sistem pencernaan, sekresi atau reabsorpsi elektrolit, cairan dan beberapa komponen nutrisi yang penting. Mikrovili usus juga berfungsi sebagai pertahanan tubuh dari kuman patogen/imunogen yang masuk melalui sistem pencernaan. Gangguan mikrovili usus bisa terjadi kerusakan pada struktur penyusun mikrovili, yaitu pada area membran dengan pendukung *Sucrase*, *isomaltase*, *Galectin-4* dan *Alkaline fosfatase*, pada area *microvillar core*

* SMF Ilmu Kesehatan Anak RSU Dr. Soetomo

** Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

dengan pendukung *villin*, *Fibrin*, *Myosin-1a*, *Myosin-1c*, *Myosin-1e*, *CX-1* dan *Calmodulin*, pada area *intermicrovillar* dengan pendukung *myosin-6*, *Clathrin* dan *Adaptin-β* dan pada area *terminal web* dengan pendukung *myosin-2*, *Myosin-5*, *Spectrin*, *Cytokeratine-8* dan *Cytokeratine-18* (Mooseker, 1984; Buckman, 2001).

Sampai saat ini pengobatan terhadap malnutrisi masih diutamakan dengan pemberian nutrisi tambahan (diet pemulihan) yaitu meningkatkan pemberian jumlah nutrisi dengan kalori terukur. Perbaikan malnutrisi dengan metode di atas ternyata masih belum optimal (efektif dan efisien), perlu dipikirkan berbagai penambahan nutrisi/element yang mempercepat perbaikan fungsi dan struktur usus, hal ini ditunjukkan dengan masih banyak angka kambuhan malnutrisi dan timbulnya kasus malnutrisi baru. Kasus malnutrisi pada anak merupakan fenomena gunung es yang dipermukaan tampak sedikit tetapi sebenarnya sangat banyak didapatkan pada masyarakat. Secara nasional insiden malnutrisi banyak dijumpai pada balita (8%). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik, jumlah balita adalah 20,87 juta, artinya 1,67 juta balita di negeri ini menderita kasus tersebut (Depkes RI, 2007).

Glutamin adalah suatu asam amino non esensial yang penggunaannya meningkat pada keadaan stres, sampai saat ini banyak dipelajari sebagai imunomodulator (Mustafa, 2004). Glutamin mempunyai fungsi penting untuk mempertahankan integritas mukosa usus, mencegah

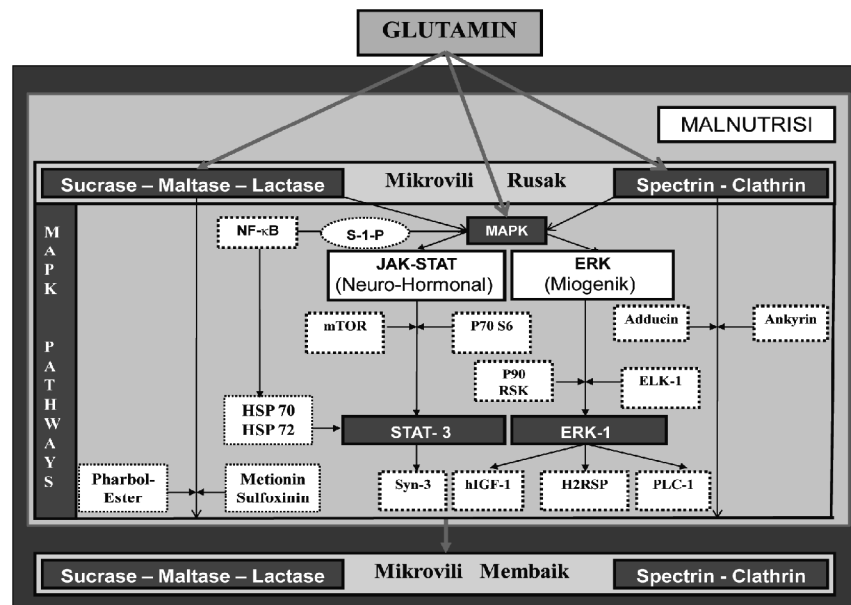
atrofi mukosa, dan mempersulit invasi dan translokasi bakteri di usus (Kato, 1999).

Untuk mengetahui perbaikan mikrovili mukosa usus dapat diketahui dengan meningkatnya aktivitas enzim dan membaiknya komponen protein penyusun mikrovili mukosa usus, yaitu pada membran mikrovili (Kato, 1999). Enzim penyusun mikrovili, *sucrase* dan *maltase* yang dipilih pada penelitian ini merupakan komponen penyusun di bagian membran dari mikrovili. Perbaikan membran dicerminkan oleh perbaikan fungsi enzim *sucrase* dan *maltase* yang ditandai dengan peningkatan produksi dan aktivitas enzim (Brunner, et al., 1979; Kato, 1999).

Pada malnutrisi terjadi keadaan respons fase akut dan menurunnya produksi protein dan suatu faktor transkripsi dalam memasukkan rekaman sinyal transduser dan aktivafor transkripsi yaitu *STAT* dan *ERK*. Aktivasi jalur sinyal protein *STAT* pada keadaan malnutrisi yang terpenting adalah *STAT-1* dan *STAT-3*, kemudian ditranslokasi ke inti, dan mempunyai efek penting di dalam memengaruhi atau modulasi transkripsi dari berbagai gen, termasuk gen yang mengkode protein fase akut yang terutama adalah anti-inflamatori primer $\alpha 1$ -Acid glycoprotein (AG) adalah salah satu dari protein fase akut yang utama pada tikus (Kato, 1999).

Pemecahan masalah mengenai belum jelasnya efek glutamin terhadap perbaikan struktur mikrovili yang ditunjukkan adanya aktivitas *sucrase*, *maltase*, dan ekspresi

Kerangka Konseptual dan Hipotesis Penelitian



Keterangan: ■ Variabel yang diteliti

spectrin, *clathrin* sebagai penyusun mikrovili, dicoba dibuktikan melalui perbaikan struktur epitel mukosa usus dan jalur sinyal protein, yang akan dicobakan dan diujikan pada model tikus yang dibuat menjadi malnutrisi. Tujuan penulisan ini untuk dapat menjelaskan efek pemberian glutamin secara oral terhadap aktivitas *sucrase*, *maltase*, *lactase* dan ekspresi *spectrin*, *clathrin* serta hubungan jalur sinyal *ERK-1* dan *STAT-3* pada perbaikan mikrovili dari epitel mukosa usus tikus yang rusak akibat malnutrisi.

Penjelasan Kerangka Konseptual

Pada penelitian ini difokuskan untuk melihat mukosa usus yang rusak akibat malnutrisi terutama pada mikrovili. Kerusakan mukosa usus menyebabkan gangguan pada tiga pilar utama yang meliputi: 1) fungsi enzim yang diwakili oleh *sucrase-maltase-lactase*, 2. struktur protein penyusun mikrovili yang diwakili oleh *spectrin-clathrin* dan 3. jalur sinyal protein yang diwakili oleh *ERK-1* dan *STAT-3*. Pemberian suplementasi glutamin dengan tujuan untuk mengkonfirmasi bahwa aktivitas *sucrase*, *maltase* dan *lactase* lebih tinggi, dan perbedaan ekspresi *spectrin* dan *clathrin* yang lebih baik, serta mengetahui hubungan jalur sinyal protein *ERK-1* dan *STAT-3* dalam perbaikan mikrovili usus tikus yang rusak akibat malnutrisi.

Pemberian glutamin pada kondisi malnutrisi dapat menstimulir *STAT-3* untuk menimbulkan konversi pada *Syn3* (*Syntaxin-3*), dan *Syn3* dipolarisasikan secara apikal didalam jalur sinyal *STAT-3* yang berfungsi sebagai faktor transkripsi sehingga terjadi perbaikan mikrovili, dan rangsangan glutamin pada jalur sinyal *ERK-1* juga menimbulkan perbaikan mikrovili yang ditandai dengan adanya perubahan morfologi berupa proliferasi, restitusi dan regenerasi sel. *hIGF-I* (*Human insulin growth factor-I*) mempunyai efek pada sel epitel usus yang berhubungan dengan proliferasi dan absorpsi usus, *H2RSP* (*Hepatocyte growth factor activator type 2-related small peptide*) berperan dalam proses regenerasi sel dan *PLC-1* (*phospholipase C-1*) berperan dalam restitusi sel. *Syn-3*, *hIGF-1*, *H2RSP* dan *PLC-1* berfungsi memperbaiki mikrovili sel epitel mukosa usus yang rusak akibat menderita malnutrisi.

MATERI DAN METODE

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian ini untuk membuktikan adanya efek glutamin pada perbaikan mikrovilli mukosa usus yang rusak sebagai akibat malnutrisi. Perbaikan mikrovilli dicerminkan oleh perbaikan struktur mikrovilli secara makroskopis yang

menunjukkan peningkatan konsentrasi dan aktivitas enzim dan terbentuknya protein baru penyusun mikrovilli yang rusak. Perbaikan pada bagian membran dari mikrovilli dicerminkan oleh peningkatan aktivitas *sucrase*, *maltase* dan *lactase* dan ekspresi protein *clathrin*, *spectrin*. Rancangan yang digunakan adalah *Post test only group design*, untuk mengetahui efek perlakuan pada unit eksperimen Selanjutnya apakah sebaran variabel diatas berdistribusi normal maka dilakukan Uji Formal dengan *test of normality* dari *Kolmogorov-Smirnov* dan *Saphiro-Wilk*.

Sampel penelitian menggunakan tikut putih jantan *Rattus norvegicus strain Wistar* dewasa berumur 12 minggu, dengan berat badan sekitar 200 gram, dinyatakan dalam kondisi malnutrisi.

Pengelompokan Subjek Penelitian

Tikus *Rattus norvegicus strain Wistar* jantan umur 12 minggu, kelompok 1 tikus normal (tidak malnutrisi). kelompok 2 tikus malnutrisi. kelompok 3, tikus normal dengan glutamin. kelompok 4 tikus malnutrisi dengan glutamin. Sebanyak 20 sampel yang diteliti bersifat homogen dalam jenis kelamin, umur dan berat badan.

Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus replikasi.

Perhitungan untuk nilai r , adalah: $(K-1)(r-1) \geq 15$ $r \geq 5$, jumlah tikus yang dipakai dalam penelitian adalah ≥ 5 peneliti menetapkan besar sampel keseluruhan 20 ekor

$$(K-1)(r-1) \geq 15$$

K = Jumlah kelompok subjek ($K = 4$)

r = Jumlah ulangan

Variabel tergantung

Sucrase, *maltase*, *lactase*, *clathrin*, *spectrin*, *ERK-1*, dan *STAT-3*

Bahan perlakuan

Glutamin powder (Manufactured exclusively for ProLab Nutrition, Inc. Chatsworth, CA 91311, Made in USA).

Metode Pemeriksaan

1. Variabel berat badan dilakukan uji pemeriksaan secara klinis dan biokimia
2. Aktivitas enzim (*maltase*, *sucrase* dan *lactase*) dengan pemeriksaan Nelson Somogyi dan Elisa
3. Ekspresi protein (*Spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3*) dilakukan pemeriksaan *Westernblotting*, imunohistokimia dan plain foto

4. Histologi dan morfometrik dilakukan pengecatan dengan hematoxilin eosin dan *scan electron microscope*.

HASIL DAN DISKUSI

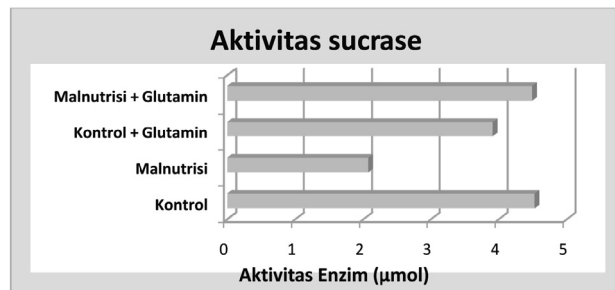
Efek glutamin pada perbaikan mukosa usus yang rusak akibat malnutrisi dapat dibuktikan oleh perubahan berat tikus (*tabel 1*).

Tabel 1. Perubahan berat tikus

Kelompok	Berat tikus (mean $\pm$ SD)		
	Hari-1	Hari-15	Hari-30
Normal (kontrol)	193,4 $\pm$ 12,85 ^a	243,8 $\pm$ 10,52 ^b	305,8 $\pm$ 29,13 ^c
Malnutrisi	106,4 $\pm$ 8,14 ^a	119,6 $\pm$ 15,58 ^b	147,2 $\pm$ 19,63 ^c
Normal + Glutamin	167,2 $\pm$ 10,32 ^a	188,4 $\pm$ 15,67 ^b	184,2 $\pm$ 11,38 ^b
Malnutrisi + Glutamin	105,8 $\pm$ 6,90 ^a	129,8 $\pm$ 19,18 ^b	164,6 $\pm$ 26,68 ^c

Keterangan: Perbedaan huruf superscript menunjukkan perbedaan bermakna pada harga $p < 0,05$.

Pada uji statistik menunjukkan bahwa pada kondisi usus yang rusak karena malnutrisi setelah diberi glutamin menunjukkan perbaikan usus yang dicerminkan oleh peningkatan berat badan yang bermakna, fakta ini bisa dipakai sebagai bukti bahwa glutamin mampu memperbaiki kerusakan mukosa usus akibat malnutrisi.

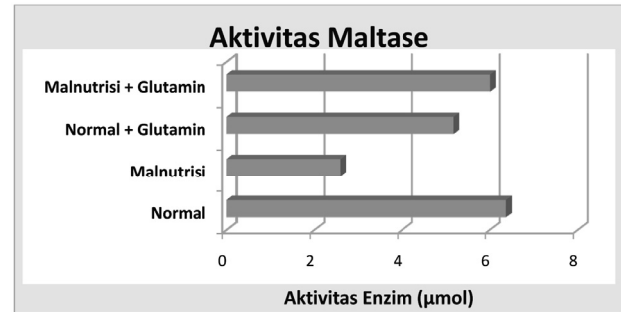


Gambar 1. Aktivitas *sucrase* di Ileum.

Uji statistik pada kelompok malnutrisi dibandingkan dengan kelompok malnutrisi yang diberi glutamin terdapat perbedaan peningkatan aktivitas *sucrase* yang bermakna di ileum ($p = 0,04$), fakta ini menjelaskan bahwa pada keadaan malnutrisi bila diberikan glutamin terbukti bermanfaat dalam perbaikan usus di ileum, artinya glutamin bermanfaat dalam perbaikan kerusakan usus di ileum (*gambar 1*).

Kondisi malnutrisi setelah diberi glutamin dari uji statistik menunjukkan peningkatan bermakna aktivitas

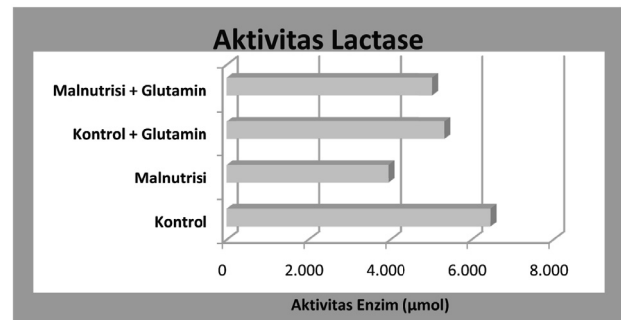
maltase di ileum ($p = 0,03$), fakta ini menunjukkan bahwa pemberian glutamin bermanfaat di ileum dalam perannya memperbaiki fungsi membran mikrovili, (*gambar 2*).



Gambar 2. Aktivitas *Maltase* di Ileum.

Pada uji statistik kelompok malnutrisi dibandingkan dengan kelompok malnutrisi yang diberi glutamin terdapat perbedaan peningkatan aktivitas *lactase* yang bermakna di ileum ($p = 0,04$).

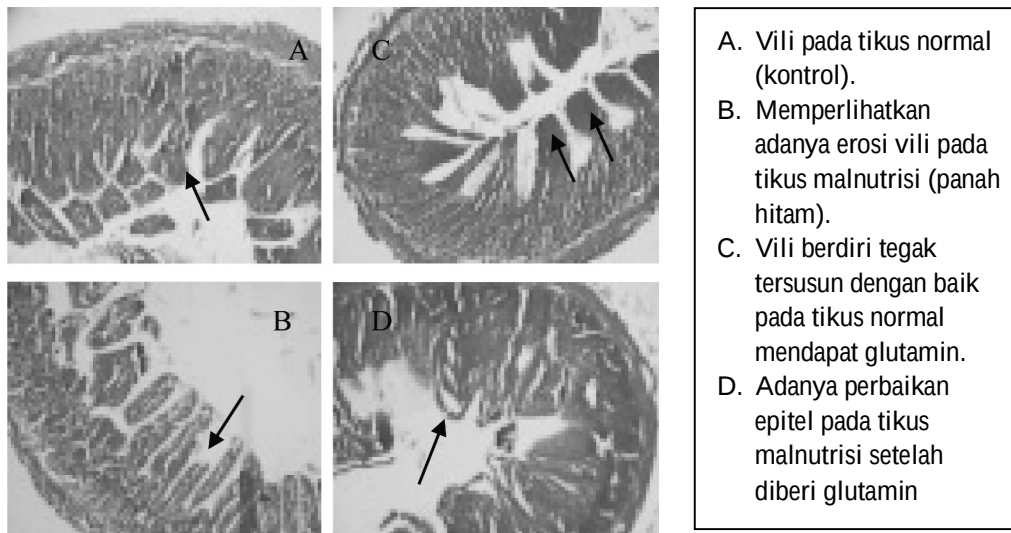
Fakta ini membuktikan bahwa glutamin dapat meningkatkan aktivitas *lactase* untuk memperbaiki usus di ileum (*gambar 3*).



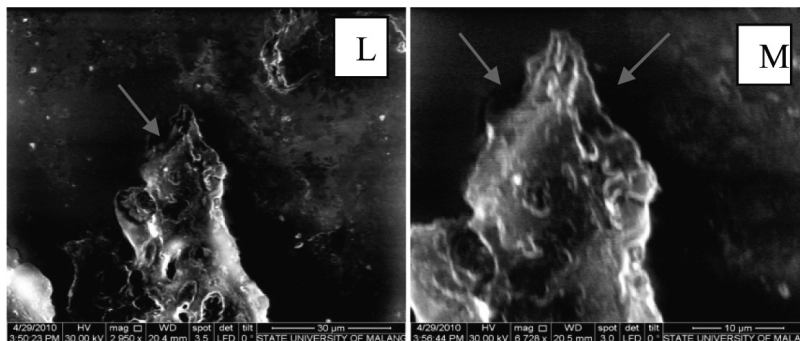
Gambar 3. Aktivitas *lactase* di Ileum.

Pada kondisi malnutrisi setelah diberi glutamin menunjukkan gambaran vili yang membaik di ileum usus, hal ini membuktikan bahwa glutamin dapat memperbaiki vili usus yang rusak akibat malnutrisi, untuk menunjukkan adanya perbaikan dibuktikan oleh pemeriksaan dengan pengecatan menggunakan hematoxilin eosin (*gambar 4*).

Pada kondisi malnutrisi setelah diberi glutamin menunjukkan gambaran mikrovili yang membaik di duodenum dan ileum usus, fakta ini membuktikan bahwa glutamin dapat memperbaiki mikrovili usus yang rusak akibat malnutrisi, untuk menunjukkan adanya perbaikan dibuktikan dengan pemeriksaan SEM (*gambar 5*).



Gambar 4. Foto ileum dengan pengecatan HE pembesaran 100x.



Gambar 5. Foto mikrovili ileum dengan SEM

L. Foto mikrovili ileum pada tikus malnutrisi pada pembesaran 3000x.

M. Foto mikrovili ileum pada tikus normal + glutamin pada pembesaran 6700x, tidak tampak adanya erosi dan ujung membran

Tabel 2. Ukuran Histomorfometrik di Ileum

Usus	Kelompok			
	Normal	Malnutrisi	Normal + Glutamin	Malnutrisi + Glutamin
Tinggi vili (mm)	16,36 ^a	7,17 ^b	14,41 ^a	11,38 ^c
Tebal Mukosa (mm)	7,49 ^a	2,24 ^b	7,50 ^a	5,36 ^c
Dalam Kripte (mm)	10,05 ^a	4,03 ^b	9,03 ^a	6,04 ^c
Enterosit (Σ)	26,00 ^a	4,00 ^b	24,00 ^a	12,00 ^c
Tinggi Mikrovili (μm)	-	148,40 ^a	-	222,30 ^b

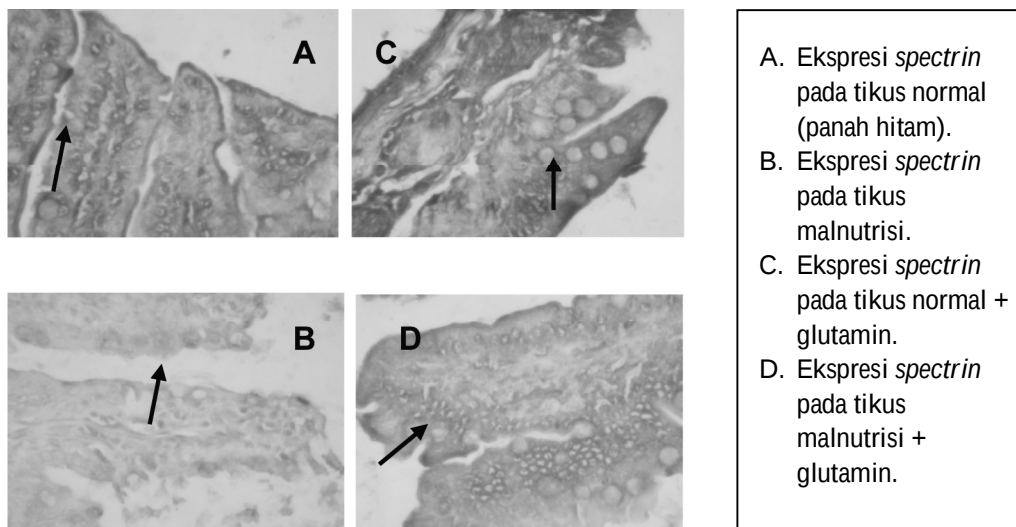
Pada pemeriksaan histomorfometrik di ileum usus yang rusak akibat malnutrisi.

Hasil menunjukkan adanya perbaikan setelah diberi glutamin yang dibuktikan dengan perbaikan parameter (tinggi vili, tebal mukosa, dalam kript, jumlah enterosit dan tinggi mikrovili), dengan fakta ini menunjukkan

bahwa glutamin dapat memperbaiki usus yang rusak akibat malnutrisi.

Perbedaan huruf superscript menunjukkan perbedaan bermakna pada harga $p < 0,05$.

Eksresi *spectrin* pada enterosit di ileum dengan metode imunohistokimia.

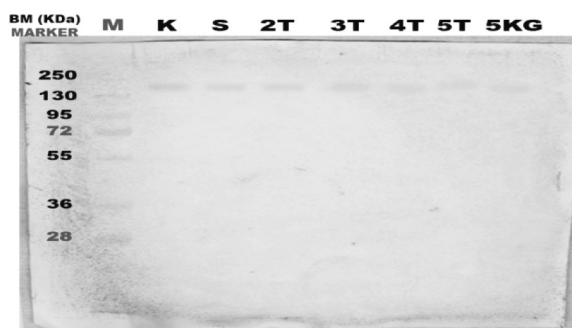


Gambar 6. Ekspresi *spectrin* di ileum.

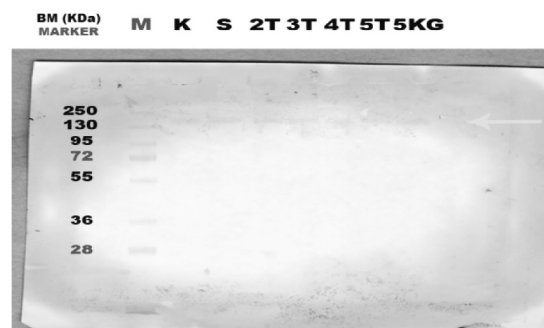
Perlakuan yang mendapat glutamin menunjukkan ekspresi lebih jelas, dengan fakta ini bahwa glutamin dapat menimbulkan ekspresi *spectrin* pada enterosit di ileum, fakta menjelaskan proses perbaikan struktur mikrovili ileum usus yang rusak akibat malnutrisi ditunjukkan dengan meningkatnya ekspresi *spectrin* (gambar 6).

Distribusi ekspresi protein di ileum dengan pemeriksaan menggunakan foto plain.

Pada kondisi malnutrisi yang diberi glutamin menunjukkan jumlah enterosit normal dan enterosit yang terekspresi semuanya meningkat yaitu pada protein *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3*, tetapi secara persentase



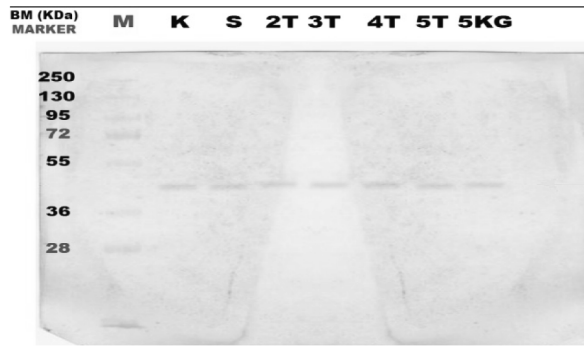
Gambar 7.1 Ekspresi *spectrin* pada jaringan ileum (BM 130–250 KDa).



Gambar 7.2 Ekspresi *clathrin* pada jaringan ileum (BM 130–250 KDa).

Tabel 3. Distribusi Ekspresi Protein di Ileum

Ekspresi Protein	Ileum			
	Normal	Malnutrisi	Normal + Glutamin	Malnutrisi + Glutamin
	Enterosit Normal/ekspresi	Enterosit Normal/ekspresi	Enterosit Normal/ekspresi	Enterosit Normal/ekspresi
Spectrin	26/16 (61%)	10/3 (33%)	28/14 (50%)	23/12 (52%)
Clathrin	14/7 (50%)	12/7 (58%)	18/13 (72%)	16/9 (56%)
ERK-1	19/10 (53%)	13/9 (69%)	33/6 (18%)	15/10 (67%)
STAT-3	29/21 (72%)	17/9 (53%)	34/19 (56%)	20/10 (50%)



Gambar 7.3 Ekspresi *ERK-1* pada jaringan ileum (BM 36–55 KDa).



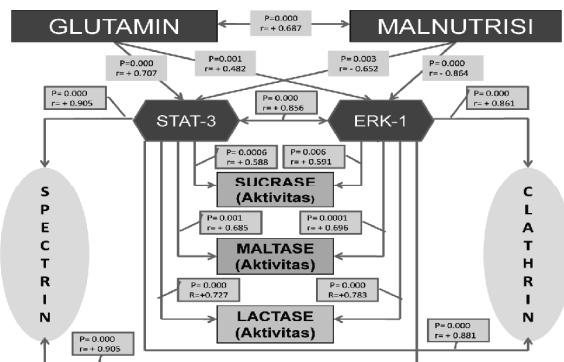
Gambar 7.4 Ekspresi *STAT-3* pada jaringan ileum (BM 72–95 KDa).

Keterangan: Deteksi *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3* pada ileum tikus kontrol (K), tikus malnutrisi (M), tikus normal + glutamin 500 mg (5T) dan malnutrisi + glutamin (5KG).

peningkatan enterosit normal/ekspresi hanya terjadi pada protein *spectrin*. Fakta membuktikan bahwa glutamin dapat meningkatkan jumlah enterosit normal maupun enterosit ekspresi pada protein *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3* di ileum.

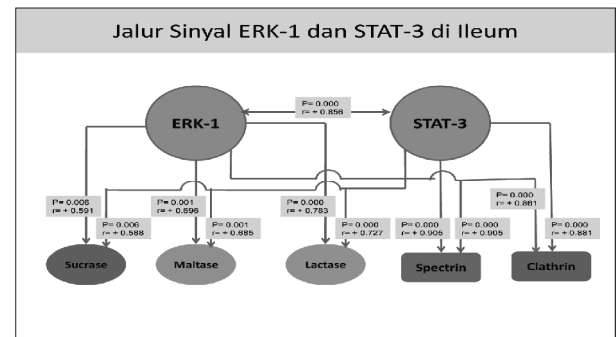
Efek glutamin pada ekspresi *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3* dengan pemeriksaan *Western blot* bisa membedakan berat molekul masing-masing protein pada jaringan usus, misalnya ekspresi *spectrin* pada jaringan ileum dengan berat molekul 130–250 KDa.

Pada analisa jalur hubungan antara glutamin dan malnutrisi di ileum. Hubungan bermakna antara glutamin dengan malnutrisi ($p = 0,00$ dan $r = +0,687$), dan bermakna antara glutamin dengan jalur sinyal protein *STAT-3* ($p = 0,00$) dengan korelasi sangat kuat ($r = +0,70$), juga bermakna antara glutamin dengan jalur sinyal protein *ERK-1* ($p = 0,03$) dengan korelasi kuat ($r = +0,48$). Fakta ini membuktikan terdapat hubungan jalur sinyal pada kondisi malnutrisi yang diberi glutamin, ditunjukkan oleh jalur sinyal protein *ERK-1* dan *STAT-3* (gambar 8).



Gambar 8. Hubungan glutamin dan malnutrisi di ileum.

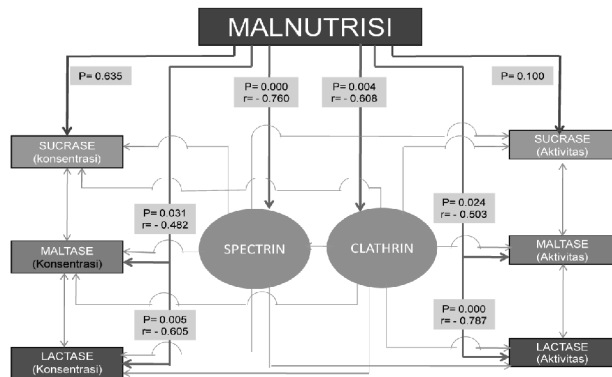
Hubungan jalur sinyal protein *ERK-1* dan *STAT-3* di ileum, Pada kondisi malnutrisi terdapat hubungan bermakna dengan aktivitas enzim *maltase* ($p = 0,02$) dengan korelasi yang lemah ($r = -0,50$), juga dengan aktivitas enzim *lactase* ($p = 0,00$) dengan korelasi yang lemah ($r = -0,78$). Hubungan bermakna dengan protein *spectrin* ($p = 0,00$) dengan korelasi lemah ($r = -0,76$), dan hubungan bermakna dengan protein *clathrin* ($p = 0,00$) dengan korelasi lemah ($r = -0,60$) di ileum (gambar 9).



Gambar 9. Hubungan jalur sinyal protein *ERK-1* dan *STAT-3* di ileum.

Hubungan malnutrisi dengan aktivitas enzim dan ekspresi protein di ileum. Hubungan malnutrisi dengan aktivitas enzim *sucrase* tidak terdapat hubungan bermakna ($p = 0,10$), hubungan bermakna dengan aktivitas enzim *maltase* ($p = 0,02$) dengan korelasi yang lemah ($r = -0,50$), juga terdapat hubungan bermakna dengan aktivitas enzim *lactase* ($p = 0,00$) dengan korelasi lemah ($r = -0,78$). Hubungan bermakna antara malnutrisi dengan protein *spectrin* ($p = 0,00$) korelasi lemah ($r = -0,76$), dan dengan

protein *clathrin* ($p = 0,00$) dengan korelasi lemah ($r = -0,60$) (gambar 10).



Gambar 10. Hubungan malnutrisi dengan aktivitas *sucrase*, *maltase*, *lactase* dan ekspresi *spectrin*, *clathrin* di ileum.

Hubungan glutamin dengan aktivitas enzim dan ekspresi protein di ileum.

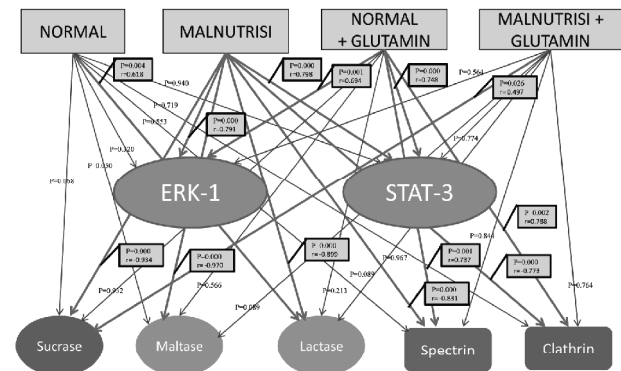
Glutamin dengan aktivitas enzim *sucrase* terdapat hubungan bermakna ($p = 0,04$) dengan korelasi kuat ($r = +0,44$) di ileum, juga dengan aktivitas enzim *maltase* ($p = 0,04$) dengan korelasi kuat ($r = +0,45$), hubungan tidak bermakna dengan aktivitas enzim *lactase* ($p = 0,30$).

Hubungan bermakna antara glutamin dengan protein *spectrin* ($p = 0,00$) dengan korelasi yang sangat kuat ($r = +0,59$), dan dengan protein *clathrin* ($p = 0,00$) dengan korelasi yang sangat kuat ($r = +0,75$). Pada ileum terdapat hubungan bermakna antara glutamin dengan protein *spectrin*

($p = 0,00$) dengan korelasi yang sangat kuat ($r = +0,59$), dan dengan protein *clathrin* ($p = 0,00$) dengan korelasi yang sangat kuat ($r = +0,75$) (gambar 11).

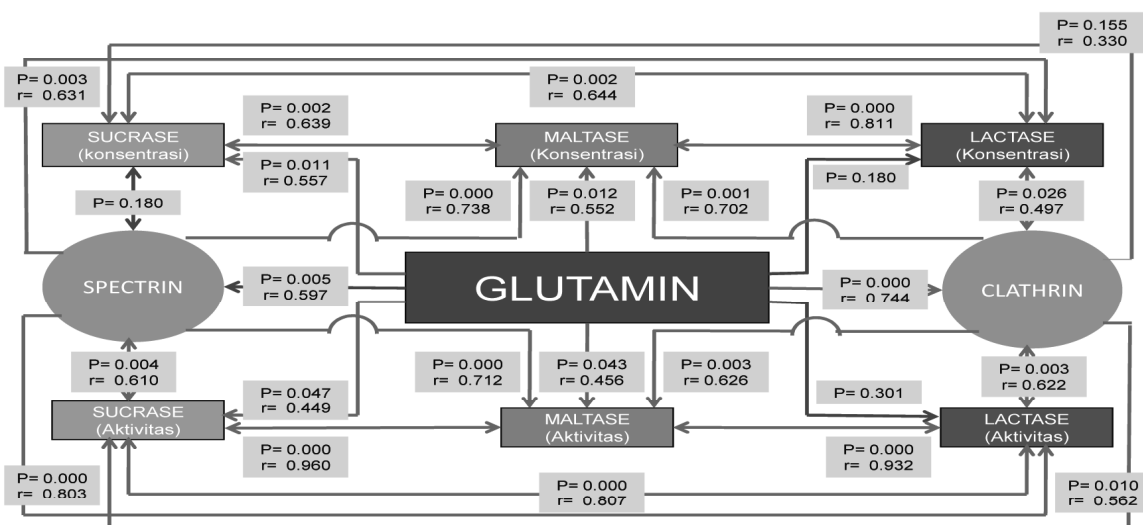
Hubungan antara kelompok perlakuan dengan aktivitas enzim dan protein di ileum.

Hubungan bermakna antara kelompok malnutrisi + glutamin dengan aktivitas enzim *sucrase*, tetapi ada hubungan tidak bermakna dengan aktivitas enzim *maltase*, aktivitas enzim *lactase*, ekspresi *spectrin*, ekspresi *clathrin*, jalur sinyal *ERK-1* dan jalur sinyal *STAT-3* (gambar 12).



Gambar 12. Hubungan antara kelompok perlakuan dengan aktivitas *maltase*, *sucrase*, *lactase* dan ekspresi *spectrin*, *clathrin* di ileum.

Penelitian ini dilakukan untuk menjelaskan mekanisme glutamin terhadap perbaikan mikrovili usus tikus yang mengalami kerusakan akibat malnutrisi, oleh karena perbaikan mikrovili merupakan pemecahan masalah dalam



Gambar 11. Hubungan glutamin dengan aktivitas *sucrase*, *maltase*, *lactase* dan ekspresi *spectrin*, *clathrin* di ileum.

penelitian ini. Homeostatik tubuh akan terganggu bila mikrovili usus mengalami kerusakan akibat malnutrisi (Naim, et al., 1991; Michael, 1995).

Mekanisme glutamin dalam memperbaiki mikrovili usus yang rusak akibat malnutrisi meliputi 3 pilar utama, yaitu: 1) Mekanisme glutamin dalam memperbaiki fungsi usus dicerminkan oleh peningkatan aktivitas enzim pendukung mikrovili, 2) Mekanisme glutamin dalam memperbaiki struktur penyusun mikrovili usus dicerminkan oleh ekspresi protein *spectrin* dan *clathrin* sebagai protein penyusun utama di mikrovili, 3) Mekanisme glutamin dalam merangsang jalur sinyal protein dengan tujuan memperbaiki mukosa usus dicerminkan oleh jalur sinyal protein STAT-3 dan ERK-1 MAPK.

Mekanisme glutamin dalam memperbaiki fungsi mukosa usus, dengan bantuan enzim glutamin sintetase dalam meregulasi sel (jaringan kript) sehingga terjadi proses diferensiasi sel, dalam proses lebih lanjut menghasilkan enterosit matur, tetapi dipengaruhi oleh substrat metionin dan sulfoxinin sebagai inhibitor dan pharbol ester sebagai aktivator.

Mekanisme glutamin dalam memperbaiki struktur penyusun mikrovili usus dibantu oleh protein *adducin* dan *ankyrin* sebagai modulator yang mempromosikan interaksi *actin* dan filamen di mikrovili (Ling, 2003).

Mekanisme glutamin dalam merangsang jalur sinyal protein MAPKinase melalui: 1) Reseptor partikel untuk mengaktivasi sinyal melalui ligan reseptor, 2) Sebagai prekursor untuk menstimulir Peptida, glukosa, protein dan nukleotida, 3) Modulator energi untuk sel, terutama enterosit, dengan berfungsinya sinyal oleh ketiga hal di atas terjadi perbaikan integritas mukosa (Michael, 1995). Ketiga pilar di atas dalam memperbaiki mukosa usus dibahas lebih lanjut di bawah ini.

Efek Glutamin pada Berat Badan Tikus

Pada kondisi malnutrisi, berat badan tikus masih tetap mengalami kenaikan meskipun dengan kenaikan berat badan yang lebih rendah dibanding kelompok normal, keadaan ini karena pemberian nutrisi yang berbeda antara kelompok tikus normal (diit pelet) dengan kelompok tikus malnutrisi (diit karak), hal ini karena angka kecukupan gizi (AKG) diit karak lebih rendah daripada diit pelet. AKG pelet adalah 337 kkal, diit karak adalah 127 kkal (FAO, 2007; Pratiwi, 2009). Penelitian dengan model hewan malnutrisi mengenai mekanisme adaptif dalam homeostasis glukosa, menunjukkan bahwa hewan model yang kekurangan protein kurang mampu mempertahankan

glukosa serum, sehingga menjadi hipoinsulinemia dan penurunan berat badan (Maria and Fabrício, 2008).

Pada kelompok kontrol berat badannya tidak naik pada hari ke 1–15 perawatan, ada beberapa faktor tikus tidak mengalami kenaikan berat badan selama perawatan, yaitu: 1) konsumsi makanan tidak mencukupi AKG, bisa karena kalori makanan pelet tersebut tidak mencukupi AKG atau asupan pelet yang dimakan tidak sesuai target (sebaiknya di sonde), 2) sistem absorpsi ususnya kurang bagus, 3) tikus dalam kondisi sakit atau stress (Pratiwi, 2009).

Pada uji statistik menunjukkan bahwa pada kondisi usus yang rusak karena malnutrisi setelah diberi glutamin menunjukkan perbaikan usus yang dicerminkan oleh peningkatan berat badan yang bermakna, fakta ini bisa dipakai sebagai bukti bahwa glutamin mampu memperbaiki kerusakan mukosa usus akibat malnutrisi.

Efek Glutamin pada Perubahan Aktivitas *sucrase*, *maltase* dan *lactase*

Glutamin pada enzim *sucrase*, *maltase* dan *lactase* secara bersamaan maupun terpisah terbukti memberikan efek dalam perbaikan mikrovili usus tikus yang rusak akibat malnutrisi. Beberapa enzim yang mempunyai efek dalam penelitian ini adalah enzim *sucrase* dan *maltase* yang tersusun pada bagian membran mikrovili, sedangkan enzim *lactase* banyak terdapat pada bagian kript sel epitel usus. Beberapa indikator perbaikan mikrovili dapat diketahui dari hasil pemeriksaan aktivitas enzim tersebut.

Pada usus malnutrisi di ileum setelah diberi glutamin terjadi peningkatan aktivitas *sucrase* yang cepat, hanya dalam waktu 2 minggu pemberian sudah terjadi peningkatan aktivitas *sucrase* yang hampir menyamai kondisi tikus normal, pada penelitian ini belum bisa diketahui faktor penyebabnya, tetapi dari beberapa jurnal keadaan ini kemungkinan ada beberapa faktor: 1) Pada keadaan malnutrisi kondisi usus di ileum lebih banyak memproduksi kandungan substrat dan kofaktor untuk merangsang aktivitas enzim *sucrase*, 2) Mukosa ileum dalam proses homeostatik mengeluarkan banyak *active site* untuk menangkap ko-enzim (Propsting, et al., 2003).

Uji statistik pada kelompok malnutrisi dibandingkan dengan kelompok malnutrisi yang diberi glutamin terdapat perbedaan peningkatan aktivitas *sucrase* yang bermakna di ileum, fakta ini menjelaskan bahwa pada keadaan malnutrisi bila diberikan glutamin terbukti bermanfaat dalam perbaikan usus di ileum (gambar 1).

Pada kondisi malnutrisi setelah diberi glutamin, aktivitas *maltase* dari uji statistik menunjukkan peningkatan

bermakna di ileum, fakta ini menunjukkan bahwa pemberian glutamin bermanfaat di ileum untuk perannya memperbaiki fungsi membran mikrovili (*gambar 2*).

Pada kelompok malnutrisi, aktivitas *maltase* dengan kadar lebih rendah di ileum dibandingkan kelompok lainnya, hal ini karena pada kondisi malnutrisi terjadi kerusakan yang luas dibandingkan pada kasus diare akut, sehingga rangsangan pada *notch* dan *ligand* reseptor lebih rendah, dan berakibat aktivitas dari enzim *maltase* di ileum kadarnya menjadi rendah (**Ardawi**, 1988).

Pada uji statistik kelompok malnutrisi dibandingkan dengan kelompok malnutrisi yang diberi glutamin terdapat perbedaan peningkatan aktivitas *lactase* yang bermakna di ileum, fakta ini membuktikan bahwa glutamin dapat meningkatkan aktivitas *lactase* untuk memperbaiki usus di ileum. *Lactase* mengatur proses transglutaminase dan meningkatkan aktivitas transglutaminase dalam sistem gastro intestinal, sitoskeleton eritrosit dan platelet manusia. Aktivitas transglutaminase total ditunjukkan oleh konsentrasi *lactase* yang tinggi di dalam usus dan platelet sel darah manusia (**Ardarwi**, 1988; **Aosasa, et al.**, 1999).

Efek glutamin pada perubahan aktivitas *sucrase*, *maltase* dan *lactase* di ileum usus yang rusak akibat malnutrisi menunjukkan adanya perbaikan yang dibuktikan dengan pemeriksaan aktivitas enzim. Mekanisme kerja glutamin pada proses sintesa untuk meningkatkan aktivitas enzim dalam perbaikan mukosa usus memerlukan oksidasi NADH atau NADPH dan Glukosa. Pada mukosa usus yang rusak bila mendapat suplemen glutamin maka enzim tersebut akan merangsang aktivitas enzim *lactase* untuk merangsang sel-sel epitel di kript (Aosasa, et al., 1999).

Efek Glutamin pada Vili Ileum Usus dengan Pengecatan HE

Vili di ileum usus tikus pada kelompok malnutrisi dengan pengecatan HE, pada kelompok tikus normal + glutamin dengan gambar vili lebih baik daripada kelompok normal, tetapi masih nampak adanya erosi yang mulai membaik.

Pada kondisi malnutrisi setelah diberi glutamin menunjukkan gambaran vili yang membaik di ileum usus, hal ini membuktikan bahwa glutamin dapat memperbaiki vili usus yang rusak akibat malnutrisi, untuk menunjukkan adanya perbaikan dibuktikan dengan pemeriksaan hematoksilin eosin (*gambar 4*).

Efek Glutamin pada Perbaikan Mikrovili Ileum Usus dengan Pemeriksaan SEM

Gambaran mikrovili di ileum pada tikus malnutrisi dengan SEM pada pembesaran 3000 $\times$, dan pembesaran

6700 $\times$ pada tikus malnutrisi + glutamin dengan SEM tampak adanya perbaikan erosi pada bagian membran dengan melekatnya glikokaliks pada mikrovili (*gambar 5*). Kerusakan mikrovili ditandai dengan rontoknya glikokaliks yang merupakan lapisan permukaan di atas luminal dari sel absorptif usus, mengandung berbagai enzim dan protein non enzimatis termasuk disakaridase, peptidase, reseptor, dan protein transpor, semuanya diperlukan bagi digesti dan absorpsi nutrisi. Komponen utama dari glikokaliks adalah karbohidrat yang tertancap kedalam permukaan mikrovili (**Kato**, 1999).

Fakta menunjukkan bahwa pada kondisi malnutrisi setelah diberi glutamin menunjukkan gambaran membran mikrovili yang membaik di ileum usus, fakta ini membuktikan bahwa glutamin dapat memperbaiki mukosa usus sampai tingkat mikrovili usus akibat malnutrisi.

Efek Glutamin pada Pemeriksaan Histomorfometrik Usus

Keadaan mukosa usus yang mengalami malnutrisi terjadi peningkatan sekresi cairan dan ion di intestinal, permeabilitas usus terhadap ion dan makromolekul juga meningkat. Dengan meningkatnya potensi untuk kehilangan cairan dan elektrolit dapat menimbulkan respon anafilaktik pada lumen usus, dan terjadi atrofi mukosa usus akibat malnutrisi yang akan mengurangi absorpsi nutrisi (**Depkes RI**, 2007).

Efek glutamin pada pemeriksaan histomorfometrik di ileum usus, pada tebal mukosa kelompok normal bila dibandingkan dengan kelompok malnutrisi terdapat perbedaan yang bermakna, karena pada kondisi malnutrisi banyak terjadi erosi atau kerusakan mukosa usus (*tabel 2*). Pada tinggi mikrovili, kelompok tikus malnutrisi bila dibandingkan dengan kelompok malnutrisi diberi glutamin terdapat perbedaan yang bermakna, karena pada kondisi malnutrisi banyak terjadi erosi atau kerusakan vili, sehingga banyak yang memendek dan atrofi. Pada pemeriksaan histomorfometrik di ileum usus yang rusak akibat malnutrisi menunjukkan adanya perbaikan setelah diberi glutamin yang dibuktikan dengan perbaikan parameter (tinggi vili, tebal mukosa, dalam kript, jumlah enterosit dan tinggi mikrovili), dengan fakta ini menunjukkan bahwa glutamin dapat memperbaiki usus yang rusak akibat malnutrisi.

Efek Glutamin pada Pemeriksaan Imunohistokimia

Eksresi *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3* pada enterosit di ileum dengan metode imunohistokimia, pada perlakuan yang mendapat glutamin menunjukkan ekspresi lebih jelas, dengan fakta ini menunjukkan bahwa glutamin dapat meningkatkan ekspresi *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan

STAT-3 pada enterosit di ileum, hal ini dapat menjelaskan proses perbaikan ileum usus yang rusak akibat malnutrisi (*gambar 6*).

Efek Glutamin pada Pemeriksaan dengan Foto Plain

Pada kondisi malnutrisi yang diberi glutamin menunjukkan jumlah enterosit normal dan enterosit yang terekspresi semuanya meningkat pada protein *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3*, tetapi secara presentase peningkatan enterosit normal/ekspresi hanya terjadi pada protein *spectrin*. Fakta membuktikan bahwa glutamin dapat meningkatkan jumlah enterosit normal maupun enterosit ekspresi pada protein *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3*. Efek glutamin pada ekspresi *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3* di ileum usus yang rusak akibat malnutrisi menunjukkan perbaikan yang dibuktikan dengan pemeriksaan foto plain (*tabel 3*).

Efek Glutamin pada Pemeriksaan dengan Western Blot

Efek glutamin terhadap ekspresi *spectrin* di ileum dengan *Western Blot*, dicerminkan oleh ekspresi *spectrin* yang ditunjukkan oleh gambar pita pada lajur blot, angka 130–250 KDa adalah berat molekul dari *spectrin* pada jaringan usus tikus (*gambar 7.1*). Berat molekul protein *spectrin* di ileum adalah yaitu 130–250 Kda, dan berat molekul protein *clathrin* di ileum adalah sama, yaitu 130–250 Kda (*gambar 7.2*).

Efek glutamin terhadap ekspresi *ERK-1* dengan *Western Blot*, dicerminkan oleh ekspresi *ERK-1* yang ditunjukkan oleh pita di gambar pada lajur blot dengan berat molekul 36–55 KDa (*gambar 7.3*). Efek glutamin terhadap ekspresi *STAT-3* dengan *Western Blot*, dicerminkan oleh ekspresi *STAT-3* dengan berat molekul 72–95 KDa (*gambar 7.3*). Berat molekul protein *STAT-3* di ileum yaitu 72–95 KDa (*gambar 7.4*).

Efek glutamin pada ekspresi *spectrin*, *clathrin*, *ERK-1* dan *STAT-3* dengan pemeriksaan *Western blot* bisa membedakan berat molekul masing-masing protein pada jaringan usus.

Efek Glutamin pada Pemeriksaan dengan Analisis Jalur

Penjelasan mekanisme glutamin dalam perbaikan mukosa usus tikus yang rusak akibat malnutrisi akan dibuktikan melalui hubungan jalur MAPK. Hubungan bermakna antara glutamin dengan *STAT-3* dan *ERK-1* di ileum dengan korelasi sangat kuat, fakta membuktikan bahwa glutamin memengaruhi jalur sinyal protein *STAT-3* dan *ERK-1* dalam memperbaiki usus yang rusak akibat

malnutrisi (*gambar 8*), adanya hubungan sinyal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor yaitu: 1) terdapat hubungan yang kuat antara notch receptor dan ligan receptor sel epitel dengan glutamin di ileum, 2) jenis molekul asam amino L-glutamin dengan sel epitel di ileum bersifat hidrofobik, artinya sinyal antar sel lebih mudah terjadi daripada sel yang bersifat hidrofilik, 3) molekul peptida yang dikeluarkan oleh glutamin untuk membentuk sinyal dan mengaktifkan reseptor pada sel epitel mudah terjadi sehingga menunjukkan sinyal yang kuat (**Kobayashi, et al., 2002**).

Hubungan bermakna antara malnutrisi dengan jalur sinyal protein *STAT-3* dengan hubungan korelasi lemah, fakta membuktikan bahwa pada kondisi malnutrisi dalam proses kerusakan/perbaikan usus dipengaruhi oleh jalur sinyal protein *STAT-3*. Pada kondisi malnutrisi aktivasi reseptor yang disebabkan oleh ligan mengikat reseptor terjadi secara langsung, sehingga sel epitel pada malnutrisi mudah sekali menerima rangsangan (berhubungan dengan respon sel terhadap ligan). Hubungan korelasi lemah pada malnutrisi dan *STAT-3* disebabkan oleh beberapa faktor yaitu: 1) jarak hubungan, terlalu jauh, 2) proses terjadinya kontak sinyal (kontak langsung atau tidak), 3) proses sinyal masuk ke dalam sel, pada malnutrisi tidak ada bantuan dari second masanger seperti cAMP (**Kobayashi, et al., 2002**).

Jalur sinyal protein *STAT-3* ada hubungan yang bermakna dengan *spectrin* dan *clathrin* dengan korelasi sangat kuat, demikian pula pada jalur sinyal protein *ERK-1* juga ada hubungan yang bermakna dengan *spectrin* dan *clathrin* dengan korelasi sangat kuat.

Jalur sinyal protein *STAT-3* ada hubungan yang bermakna dengan aktivitas *sucrase*, *maltase* dan *lactase* dengan korelasi sangat kuat, demikian pula pada jalur sinyal protein *ERK-1* ada hubungan yang bermakna dengan aktivitas dan konsentrasi *sucrase*, *maltase* dan *lactase* dengan korelasi sangat kuat (**Heinrich, et al., 1998**).

Jalur sinyal protein *STAT-3* tidak ada hubungan yang bermakna dengan aktivitas *lactase* dan konsentrasi *lactase* di Jejunum, demikian pula jalur sinyal protein *ERK-1* tidak ada hubungan bermakna dengan aktivitas *lactase* dan konsentrasi *lactase*, tidak ada hubungan sinyal antar sel disebabkan oleh beberapa faktor: 1) *Feromonone factor*, sinyal peptida tidak bisa nyambung karena terjadi pada dua organisme yang berbeda, 2) Sel sinyal bisa unisel dan multi sel, 3) Hubungan sinyal tergantung jarak, bila jarak antar sel terlalu jauh kemungkinan besar tidak ada sinyal. Sel berkomunikasi satu sama lain melalui kontak langsung (*juxtacrine signal*), jarak pendek (*paracrine signal*), atau

jarak yang jauh (endokrin signal). Beberapa sel dapat terhubung dengan sitoplasma ke sitoplasma sel yang berdekatan (**Creer, et al., 2005**). Hubungan jalur glutamin dan malnutrisi di ileum, terdapat hubungan bermakna antara glutamin dengan jalur sinyal protein *STAT-3* dengan korelasi kuat (*gambar 8*).

Hubungan jalur sinyal yang bermakna antara sinyal protein *STAT-3* dan *ERK-1* dengan aktivitas *sucrase*, *maltase* dan *lactase* dengan korelasi yang kuat, dan terdapat hubungan jalur bermakna dengan protein *spectrin*, *clathrin* dengan di ileum, fakta ini membuktikan bahwa hubungan sinyal protein yang saling terkait antar sinyal protein di atas (*gambar 9*). Hubungan jalur yang tidak bermakna antara malnutrisi dengan aktivitas enzim *sucrase*, tetapi terdapat hubungan bermakna dengan aktivitas *maltase* dan *lactase*, dan terdapat hubungan bermakna dengan protein *spectrin* dan *clathrin* dengan korelasi yang lemah di ileum, fakta ini menjelaskan bahwa pada kondisi malnutrisi tidak memengaruhi penurunan maupun peningkatan aktivitas *sucrase*, tetapi berpengaruh pada aktivitas *maltase* dan *lactase* meskipun pengaruhnya lemah (*gambar 10*). Hubungan sinyal tidak terjadi pada: 1) Uni sel dengan uni sel, karena sel normal yang tidak ada rangsangan cenderung pasif, 2) Uni sel dengan multi sel, satu sel hanya bisa berhubungan dengan satu/dua sel saja, tetapi tidak bisa berhubungan dengan sel yang tidak mempunyai ligan dan notch receptor yang sama (**Heinrich, et al., 1998**).

Pada ileum terdapat hubungan bermakna antara glutamin dengan aktivitas *sucrase*, aktivitas *maltase*, *spectrin* dan *clathrin*. Terdapat hubungan bermakna antara kelompok malnutrisi dengan aktivitas enzim *sucrase*, aktivitas enzim *maltase*, aktivitas enzim *lactase*, ekspresi *spectrin*, ekspresi *clathrin*, jalur sinyal *ERK-1* dan jalur sinyal *STAT-3*.

Pada ileum terdapat hubungan bermakna antara kelompok malnutrisi + glutamin dengan ekspresi *spectrin*, ekspresi *clathrin*, jalur sinyal *ERK-1* dan jalur sinyal *STAT-3* (*gambar 12*).

Bagian mikrovili usus yang diteliti ditekankan pada bagian membran, intermikrovilar dan terminal web, karena bagian ini merupakan bagian mikrovili yang paling berperan dalam proses terganggunya mikrovili pada permasalahan yang terjadi akibat malnutrisi.

Efek glutamin dalam perbaikan mikrovili yang ditunjukkan dengan hubungan jalur sinyal MAP kinase yang diwakili oleh *ERK-1* dan *STAT-3* juga dibuktikan dalam penelitian ini. MAP kinase merupakan jalur sinyal protein penting yang diperlukan untuk menjalankan proses regulasi, diferensiasi dan proliferasi sel epitel di usus. Protein ini

dapat memodulasi protein lain di dalam sitoplasma setelah berikatan dengan fosfat pada gugus *serine/threonine acids*. Ada 2 jalur utama dalam proses perbaikan usus akibat malnutrisi yang termasuk di dalam kaskade MAP kinase yaitu jalur *ERK-1* dan *STAT*, jalur *ERK-1* berhubungan dengan proses miogenik dan jalur *STAT* berhubungan dengan proses neuro-hormonal. Jalur *ERK-1* bertanggung jawab terhadap aktivasi proses transkripsi, dan jalur *STAT-3* diteliti karena berefek pada proses perbaikan kerusakan mukosa usus (**Argenzio, et al., 2000**).

Efek glutamin dalam menjelaskan mekanisme perbaikan mukosa usus tikus yang rusak akibat malnutrisi dibuktikan oleh hubungan jalur analisis.

SIMPULAN

1. Pemberian glutamin menimbulkan efek perbaikan membran mikrovili usus. Pada malnutrisi, *sucrase* adalah enzim yang lebih berperan dalam perbaikan membran mikrovili di duodenum dibanding *maltase* dan *lactase*.
2. Pemberian glutamin menimbulkan efek perbaikan struktur protein penyusun mikrovili usus. Pada malnutrisi, *clathrin* adalah protein yang lebih berperan dalam perbaikan struktur protein penyusun mikrovili di duodenum, jejunum dan ileum dibanding *spectrin*.
3. Pemberian glutamin menunjukkan adanya perbaikan mikrovili usus melalui jalur sinyal protein *ERK-1* dan *STAT-3* di usus. Pada malnutrisi, sinyal protein *ERK-1* lebih berperan di duodenum dan ileum, sedangkan sinyal protein *STAT-3* lebih berperan di jejunum.
4. Penelitian menghasilkan teori baru yang menjelaskan mekanisme perbaikan mikrovili usus yang diwakili oleh enzim *maltase*, *sucrase* dan protein *spectrin*, *clathrin* melalui jalur sinyal protein *ERK-1* dan *STAT-3*.

SARAN

1. Penelitian lanjutan untuk mengetahui efek glutamin pada pengobatan kerusakan usus yang diakibatkan oleh infeksi.
2. Penelitian lanjutan penggunaan glutamin pada anak yang menderita malnutrisi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aosasa S, Mochizuki H, Yamamoto T, 1999.** A clinical study of the effectiveness of oral glutamine supplementation during total parenteral nutrition: influence on mesenteric mononuclear cells. *J Parent Ent Nutr*, 23(Suppl): S41–44.

- Ardarwi MSM**, 1988. Glutamin and glucose metabolism in human peripheral lymphocytes. *J. Metabolism*, 37: 99–103.
- Argenzio RA, Rhoads JM, Chen W**, 2000. Glutamin metabolism stimulates intestinal cell MAPKs by a cAMP inhibitable, Raf independent mechanism. *Gastroenterology*, 118: 90–100.
- Brunner I, Hauser H, Braun H**, 1979. The mode of association of the enzyme complex sucrase-isomaltase within the intestinal brush-border membran. *I Biol Chem*, 254: 1821–1828.
- Buckman AL**, 2001. Handbook of Nutritional Support. Dalam Susanto JC, 1999. Penilaian Status Gizi pada Anak Sakit Berat dalam Symposium Nasional Pediatrik Gawat Darurat V, Surakarta 1: 1–19.
- Creer A, Gallagher P, Slivka D, Jemiolo B, Fink W, Trappe S**, 2005. Influence of muscle glycogen availability on ERK-1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle, *J Appl Physiol* 99: 950–956.
- Depkes RI**, 2007. Pedoman Tata Laksana Kurang Energi Protein pada Anak di Rumah Sakit. Gaya Baru, Jakarta, Buku 1: 1–10.
- FAO**, 2007. Agriculture Statistics - Grains - Rice production (2007) by country <http://faostat.fao.org/> diakses pada 6 Mei 2010.
- Heinrich PC, Behrmann I, Muller NG, Schaper F, and Graeve L**, 1998. Interleukin-6-type cytokine signaling through the gp130/JAK/STAT pathway. *Biochem J* 334: 297–314.
- Kato**, 1999. Structure and Function of Intestinal Mucosal Epithelium. in: Ogra PL, Strober W, Mestecky J, McGhee JR, Lomm ME, Bremenstock J. eds. *Handbook of Mucosal Immunity*, Sandiego, Academic & Press Inc, 1: 11–26.
- Kobayashi M, Takeyoshi I, Yoshinari D, Matsumoto K, and Morishita Y**, 2002. p38 mitogen activated protein kinase inhibition attenuates ischemia reperfusion injury of the rat liver. *Surgery* 131: 344–349.
- Ling PR**, 2003. Organization, chemistry, and assembly of the cytoskeletal apparatus of the intestinal brush border. *Annu Rev Cell Biol*, 1: 209–41.
- Maria AR, Fabrício AV**, 2008. Animal models and glucose homeostasis in malnutrition. <http://www.efdeportes.com/efd116/animal-models-and-glucose-homeostasis-in-malnutrition.htm>. diakses 16 maret 2009.
- Michael J Lentze**, 1995. Molecular and cellular aspects of hydrolysis and Absorption, *Am J Clin Nutr*, 61(suppl): 946S-951S.
- Mooseker B**, 1984. Brush Border Cytoskeleton and Intergration of Cellular Function. *The Journal of Cell Biology* 99: 104s-112s.
- Mustafa I**, 2004. Present and future of Immunonutrition, Makalah lengkap KONAS IDSAI VII, Bagian Anestesiologi & Terapi Intensif FKUH–RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, 1: 6–12.
- Naim HY, Niermann T, Kleinhans U, Hollenberg CP, Strasser AWM**, 1991. Striking structural and functional similarities suggest that intestinal sucrase-isomaltase, human lysosomal glucosidase, and *Schwanniomyces occidentalis* glucoamylase derived from common ancestral gene. *FEBS Lett*, 294: 109–12.
- Pratiwi RAN**, 2009. Komposisi cara pembuatan makanan tikus, FKUI 2009. <http://www.sourceid=navclient&ie=UTF8&rlz=1T4TSN>, diakses 5 Juli 2010.
- Pröpsting MJ, Jacob R, Naim HY**, 2003. A glutamine to proline exchange at amino acid residue 1098 in sucrase causes a temperature-sensitive arrest of sucrase-isomaltase in the endoplasmic reticulum and cis-Golgi. *J Biol Chem*. 278(18): 16310–16314.