

Original Article

## Degenerasi dan nekrosis pada neuron penyusun sistem saraf enterik di usus halus dan usus besar tikus yang diinjeksi *paraquat dichloride*

Tri Wahyu Pangestiningasih \*, Daisynta Prima Aninditya, Gerarda Gita Puspitandaru, Iffah Sofana, Rina Pratiwi

Department of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281

\*Correspondence: [estifkh@ugm.ac.id](mailto:estifkh@ugm.ac.id)

Received: December 31<sup>th</sup>, 2020; Accepted: March 18<sup>th</sup>, 2021; Published online: July 24<sup>th</sup>, 2021

### Abstrak

**Tujuan:** Pada penderita penyakit Parkinson (PP) terjadi gangguan fungsi neuron katekolaminergik pada Sistem saraf enterik (SSE) dengan gejala yang terlihat yaitu konstipasi juga diare. *Paraquat dichloride* (PQ) merupakan herbisida bersifat neurotoksik yang diduga dapat menginduksi terjadinya PP. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari gambaran histologis neuron pada sistem saraf enterik usus halus dan usus besar tikus yang diinjeksi PQ.

**Metode:** Sepuluh ekor tikus dibagi menjadi 2 kelompok masing-masing 5 ekor. Kelompok kontrol diinjeksi akuades dan kelompok perlakuan diinjeksi PQ dengan dosis 7 mg/kg bb. Injeksi diberikan secara intraperitoneal, dua kali seminggu selama 3 minggu dengan volume 1 ml/injeksi. Usus halus dan usus besar dikoleksi dan diproses untuk preparat histologi dalam sayatan parafin, kemudian diwarnai dengan *cresyl violet* dan imunohistokimia menggunakan antibodi tirosin hidroksilase sebagai penanda neuron katekolaminergik. Preparat histologi usus diamati menggunakan mikroskop cahaya dan dianalisis secara deskriptif.

**Hasil:** Neuron pada usus halus dan usus besar tikus kelompok normal teramati normal sedangkan pada kelompok perlakuan ada yang normal, namun ada pula yang mengalami degenerasi berupa kromatolisis, juga nekrosis yang ditandai dengan rusaknya membran sel, kariolisis, hilangnya sebagian besar badan Nissl, dan penurunan jumlah neuron katekolaminergik.

**Kesimpulan:** *Paraquat dichloride* dapat menyebabkan perubahan pada struktur neuron berupa degenerasi, nekrosis, serta penurunan jumlah neuron katekolaminergik pada SSE usus halus dan usus besar.

**Kata Kunci:** neuron; *paraquat dichloride*; sistem saraf enterik; usus besar; usus halus

### Abstract

**Objective:** In Parkinson's disease (PD) patients, there is a disruption in the function of catecholaminergic neurons in Enteric nervous system (SSE) with some symptoms: constipations and diarrhea. Paraquat dichloride (PQ) is a neurotoxic herbicide which is thought to induce PD. This study aims to study the histological features of neurons in the enteric nervous system of small and large intestines injected with PQ.

**Methods:** Ten rats were divided into 2 groups of 5 each. The control group was injected with distilled water and the treatment group was injected with PQ 7 mg/kg BW. The injection was given

intraperitoneally, twice a week for 3 weeks with a volume of 1 ml/injection. Small intestine and large intestine were collected and processed for histological preparations in paraffin incisions, then stained with cresyl violet and immunohistochemistry using tyrosine hydroxylase antibody as a marker of catecholaminergic neurons. Intestinal histological preparations were observed under light microscope and analyzed descriptively.

**Results:** Neurons in the small intestine and large intestine of normal group rats were observed normal, while in the treatment group some neurons were normal, but some of them became degeneration in the form of chromatolysis, also necrosis which was characterized by damage of cell membranes, karyolysis, loss of most of the Nissl bodies, and decreased numbers of catecholaminergic neurons.

**Conclusions:** Paraquat dichloride cause changes in enteric nervous system's neuron structures in the form of degeneration, necrosis, and a decrease in the number of catecholaminergic neurons in the small intestine and large intestine.

**Keywords:** enteric nervous system; large intestine; neurons; paraquat dichloride; small intestine

---

## PENDAHULUAN

Sistem saraf enterik merupakan sistem saraf yang besar dan kompleks pada sistem saraf perifer, serta bekerjanya secara otonom pada saluran pencernaan. Sistem saraf ini terdiri dari beberapa tipe neuron yang berbeda, jumlah neuronnya sebanding dengan jumlah neuron pada medula spinalis dan susunan neurotransmitter serta neuromodulator mirip dengan yang ditemukan di sistem saraf pusat. Neuron pada SSE yang saling terhubung, disokong oleh sel glia membentuk pleksus dan terletak di dua pleksus utama: pleksus submukosa (*Meissner's*) dan pleksus mienterikus (*Auerbach's*). Sistem saraf enterik berfungsi untuk mengontrol pergerakan usus, pertukaran cairan melewati membran mukosa, aliran darah dan sekresi hormonal usus [1]. Pleksus submukosa terletak di area tunika submukosa [2], berfungsi untuk mengatur sekresi gastrointestinal dan aliran darah lokal [3]. Pleksus mienterikus terletak di antara dua lamina muskulus, yaitu lamina muskularis sirkularis interna dengan lamina muskularis longitudinalis eksterna tunika muskularis [4]. Pleksus ini mengandung neuron sensorik intrinsik, beberapa tipe interneuron, neuron motor eksitatori, dan inhibitor yang berfungsi untuk mengatur motilitas [3].

Dalam upaya memaksimalkan hasil pertanian, para petani sering menggunakan herbisida untuk menghilangkan gulma, salah satu herbisida itu adalah PQ. *Paraquat*

*dichloride* merupakan herbisida kelompok Bipiridilium umumnya dijual dalam larutan 20% (Gramoxone. Gramoxone S, Herbatop 276 dan Paracol). *Paraquat dichloride* merupakan senyawa yang dapat menyebabkan penyakit Parkinson (PP) dengan mekanisme mengganggu proses rantai transfer elektron kompleks I mitokondria neuron. Pada kompleks I tersebut PQ menginduksi terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) seperti superoksida ( $O_2^-$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Akumulasi dari ROS akan menyebabkan disfungsi mitokondria dan stress oksidatif yang memicu degenerasi neuron [5]. Pada penderita PP gejala gangguan pencernaan sering muncul lebih dahulu dibandingkan gejala yang berkaitan dengan fungsi sistem saraf pusat. Gangguan sistem pencernaan yang muncul pada penderita PP meliputi berat badan berkurang, hipersalivasi, disfagia, disfungsi lambung pertumbuhan bakteri pada usus halus meningkat, diare [6]. *Paraquat dichloride* dapat merangsang aktivasi sinyal cascades intraseluler yang sangat awal dan cepat sehingga menyebabkan degenerasi neuron [7] juga proses apoptosis yaitu kematian sel secara terprogram dalam situasi tertentu [8]. Menarik untuk diteliti apakah PQ dapat menyebabkan perubahan histologi neuron pada usus sebagai penyusun SSE.

## MATERI DAN METODE

Sepuluh ekor tikus (*Rattus norvegicus albinus*) strain Wistar, jantan, berumur 3 bulan,

dikelompokkan menjadi 2 masing-masing terdiri dari 5 ekor. Kelompok I (kelompok kontrol) diinjeksi akuades, sedangkan kelompok II (kelompok perlakuan) diinjeksi PQ yang dilarutkan dalam akuades dengan dosis 7 mg/kg bb. Injeksi diberikan secara intraperitoneal, volume 1 ml, seminggu dua kali selama 3 minggu. Setelah selesai perlakuan, hewan dieutanasi menggunakan anestetika ketamin dosis 40 mg/kg berat badan dan xylazin dosis 5 mg/kg berat badan yang diinjeksikan secara intramuskular. Organ usus halus (duodenum, jejunum, ileum) dan usus besar (sekum dan kolon) difiksasi menggunakan *neutral buffered formalin* 10% dengan cara perfusi intrakardial. Metode koleksi sampel ini telah mendapat persetujuan dari komisi etik, LPPT Universitas Gadjah Mada dengan nomor 00018/04/LPPT/V/2016. Sampel organ usus diproses histologi dengan metode parafin kemudian disayat secara longitudinal dengan ketebalan 5  $\mu$ m dan diambil 2 sayatan secara serial. Sayatan organ ditempelkan pada slide, sayatan pertama untuk pewarnaan *cresyl violet* dan sayatan ke dua untuk pewarnaan imunohistokimia.

#### **Pewarnaan *cresyl violet***

Slide sayatan pertama organ usus diinkubasi selama semalam pada suhu 45°C, kemudian ditunggu hingga dingin pada suhu ruang. Proses selanjutnya yaitu deparafinisasi dengan larutan silol I, II, dan III masing-masing selama lima menit. Selanjutnya dilakukan proses rehidrasi menggunakan etanol absolut I dan II, etanol 90% I dan II, etanol 80%, etanol 70% masing-masing selama lima menit, kemudian dicelupkan ke dalam akuades selama 10 celup atau sampai etanol hilang. Slide dimasukkan ke dalam larutan *cresyl violet* selama 15 menit, pada suhu 37°C.

Tahap selanjutnya yaitu dilakukan dehidrasi dengan merendam slide jaringan dalam etanol 70%, 80%, 90%, etanol absolut I dan II masing-masing 30 detik, kemudian proses *clearing* dalam silol I, II, III masing-masing selama dua menit. Tahap terakhir yaitu *mounting* menggunakan entelan secukupnya kemudian ditutup dengan *cover glass*.

#### **Pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi terhadap tirosin hidroksilase (TH)**

Slide sayatan ke dua organ usus dideparafinisasi dan direhidrasi seperti pada pewarnaan *cresyl violet*, kemudian slide dilakukan proses membuka epitop dengan memanaskan slide dalam buffer sitrat, pH: 6 menggunakan *microwave* selama 30 menit kemudian dibiarkan dingin pada suhu ruang selama 30 menit. Peroksidase endogen pada organ diblok dengan cara merendam sediaan pada 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dalam akuades selama 30 menit, kemudian latar belakang (*background*) organ diblok menggunakan sniper (Biocare Medical, Cat No: STUHRP700) selama 60 menit.

*Antibodi primer mouse anti-TH* (1/500; Immunoleader, Cat. No: PB 9449) ditetaskan pada slide organ dan diinkubasikan selama satu malam pada suhu 4°C. Preparat control pewarnaan yang dipakai adalah sayatan kelenjar adrenal tikus sehat. Preparat kontrol positif diberi antibodi primer dan preparat kontrol negatif diberi diluent buffer, tanpa antibodi primer. Proses selanjutnya adalah pemberian antibodi sekunder yaitu Trekkie Universal Link Biocare (Medical, Cat No: STUHRP700) selama 20 menit kemudian pemberian TrekAvidin-HRP (Biocare Medical, Cat No: STUHRP700) selama 60 menit. Proses selanjutnya adalah pemberian kromogen Betazoid DAB + substrat (Biocare Medical, Cat No: STUHRP700) selama 5 menit. Setiap tahap pewarnaan mulai dari pemberian 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sampai ke pemberian Betazoid DAB + substrat selalu diawali dengan pencucian 3 kali di dalam larutan *phosphate buffered saline* masing-masing selama 10 menit. Setelah pemberian Betazoid DAB+ substrat slide dicuci sebanyak 3 kali dalam akuades kemudian diwarnai hematoksilin sebagai *counterstain* selama 1 menit, dilanjutkan dengan proses dehidrasi, *clearing*, dan *mounting* seperti slide organ yang diwarnai *cresyl violet*.

Hasil pewarnaan diamati menggunakan mikroskop cahaya yang tersambung dengan perangkat *software Optilab*. Pengamatan mikroskopik struktur neuron penyusun pleksus submukosa dan pleksus mienterikus yang diwarnai *cresyl violet* sebagai pewarna badan Nissl menunjukkan warna biru pada neuron. Hasil pewarnaan imunohistokimia

menggunakan antibodi untuk TH yaitu salah satu enzim yang mensintesis neurotransmitter dopamin menunjukkan bahwa neuron katekolaminergik pada pleksus submukosa dan pleksus mienterikus adalah neuron yang imunoreaktif terhadap antibodi TH (TH-IR) berwarna coklat kekuningan. Data hasil pengamatan struktur neuron dianalisis secara deskriptif.

## HASIL

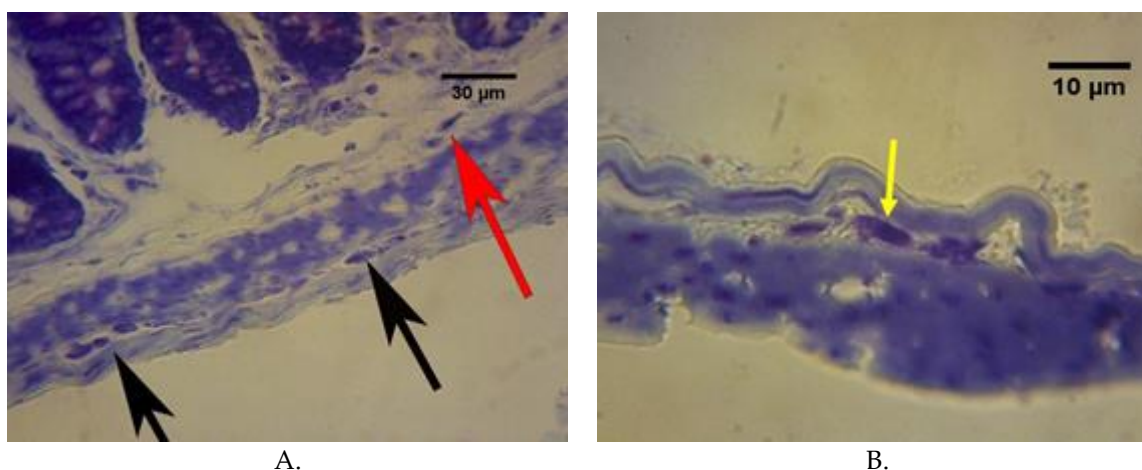
### Neuron penyusun SSE yang diwarnai *cresyl violet*

Hasil pewarnaan *cresyl violet* menunjukkan bahwa neuron penyusun pleksus submukosa dan pleksus mienterikus pada usus halus dan usus besar tikus berwarna biru, berbentuk multipolar, bipolar dan pseudounipolar. Pada kelompok kontrol, neuron terlihat normal sedangkan pada kelompok perlakuan terlihat neuron yang normal, namun juga teramati neuron yang mengalami degenerasi yang ditandai dengan hilangnya sebagian badan Nissl. Pada kelompok perlakuan ditemukan neuron yang mengalami nekrosis dengan tanda rusaknya membran sel, kariolisis, dan hilangnya sebagian besar badan Nissl. Pada Gambar 1 ditampilkan neuron normal, pada pleksus mienterikus dan pleksus submukosa berbentuk multipolar

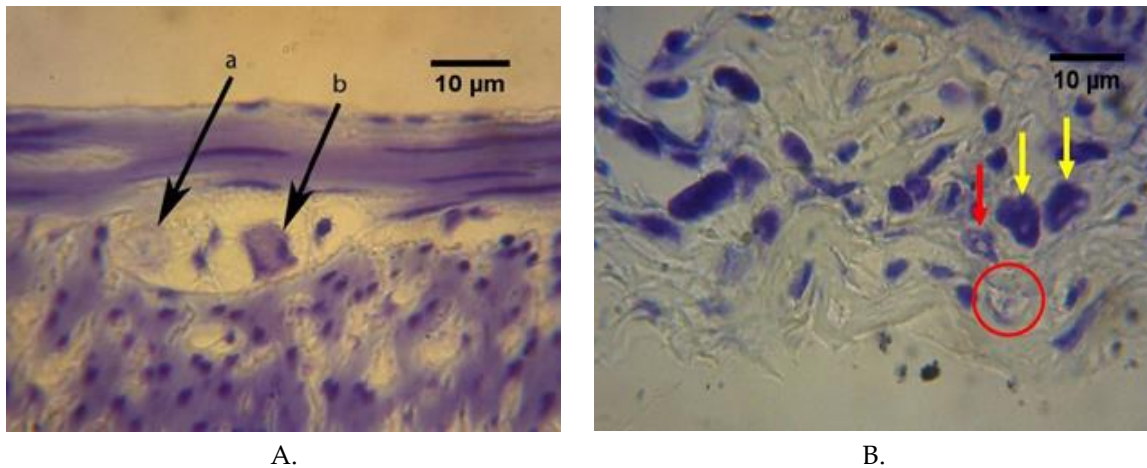
dan bipolar. Pada Gambar 1A dengan perbesaran lemah dalam satu bidang pandang terlihat neuron pada pleksus submukosa dan pleksus mienterikus berbentuk bipolar dan dengan perbesaran kuat (Gambar 1B) terlihat neuron penyusun pleksus mienterikus pada sekum yang berbentuk bipolar. Pada Gambar 2 menunjukkan neuron yang mengalami perubahan struktur pada pleksus submukosa sekum dan pleksus mienterikus ileum pada hewan kelompok perlakuan. Pada pleksus submukosa sekum menunjukkan terdapat neuron multipolar normal dan neuron multipolar yang mengalami degenerasi ditandai dengan badan Nissl yang mulai menghilang, dan neuron multipolar yang mengalami nekrosis ditandai dengan rusaknya membran sel, kariolisis, dan hilangnya sebagian besar badan Nissl. Pada pleksus mienterikus ileum menunjukkan adanya neuron multipolar yang mengalami kerusakan berupa kariolisis ditandai dengan menyebarnya badan Nissl ke tepi sitoplasma dan mulai menghilang.

### Neuron penyusun SSE yang diwarnai imunohistokimia menggunakan antibodi tirosin hidroksilase (TH)

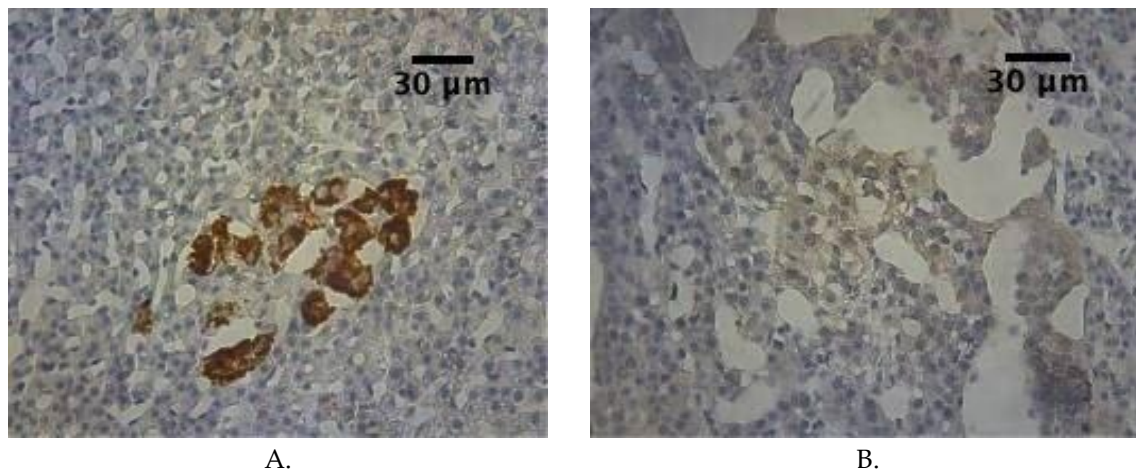
Pewarnaan imunohistokimia dengan antibodi primer mouse anti-TH menunjukkan hasil positif, sel berwarna coklat (Gambar 3A) dibandingkan area yang sama pada kontrol



**Gambar 1.** Neuron penyusun sistem saraf enterik pada usus halus dan usus besar tikus yang diinjeksi akuades. A. Dengan perbesaran lemah dalam satu bidang pandang terlihat neuron pada pleksus submukosa (panah merah) dan pleksus mienterikus (panah hitam) berbentuk bipolar. B. Pada perbesaran kuat, terlihat neuron penyusun pleksus mienterikus pada sekum (panah kuning) yang berbentuk bipolar. Pewarnaan *cresyl violet*.



**Gambar 2.** Neuron penyusun sistem saraf enterik pada usus halus dan usus besar tikus yang diinjeksi *paraquat dichloride* dosis 7 mg/kg bb. A. Pleksus mienterikus ileum tikus menunjukkan adanya kerusakan berupa kariolisis (a) dan neuron normal berbentuk multipolar (b). B. Neuron pada pleksus submukosa sekum. Neuron multipolar normal (panah kuning), neuron multipolar degenerasi (panah merah) yang ditandai dengan badan Nissl yang mulai menghilang, dan neuron multipolar nekrosis (lingkar merah) ditandai dengan rusaknya membran sel, kariolisis, dan hilangnya sebagian besar badan Nissl. Pewarnaan *cresyl violet*.



**Gambar 3.** Kelenjar adrenal tikus sebagai prepatat kontrol teknik pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi tirosin hidroksilase. A. kontrol positif dan B. kontrol negatif. Warna coklat pada sel kromafin di medula adrenal pada Gambar A (panah hitam) menunjukkan bahwa positif terhadap TH, sedangkan organ yang tidak diberi antibodi primer tidak berwarna coklat (Gambar B, panah hijau).

negatif teknik pewarnaan (Gambar 3B) tidak berwarna coklat karena tidak diberi antibodi primer.

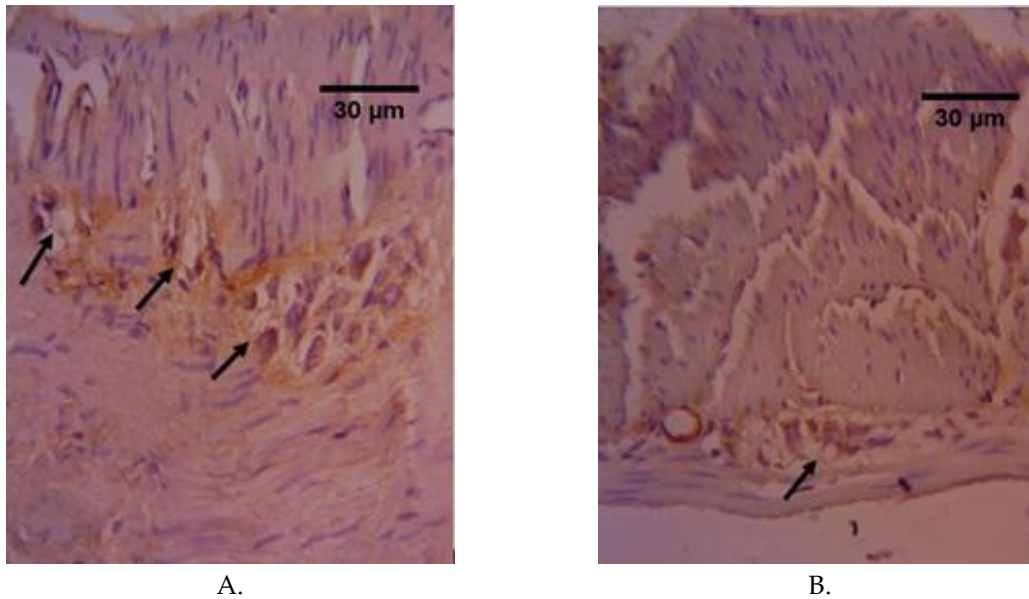
Imunoreaktivitas TH terdeteksi pada pleksus submukosa dan pleksus mienterikus usus besar dan usus halus tikus. Jumlah neuron TH-imunoreaktif mengalami penurunan pada tikus kelompok perlakuan. Selain itu pada kelompok perlakuan juga terlihat bahwa neuron TH-imunoreaktif berukuran lebih kecil. Perbandingan neuron

yang TH imunoreaktif pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan ditampilkan pada Gambar 4.

## PEMBAHASAN

Pada SSE usus halus dan usus besar tikus terdapat dua pleksus utama yaitu pleksus mienterikus (*Auerbach's*) dan pleksus submukosa (*Meissner's*). Pleksus mienterikus terletak diantara lamina muskularis sirkularis





**Gambar 4.** Neuron katekolaminergik pada pleksus mienterikus rektum tikus yang diwarnai imunohistokimia menggunakan antibodi tirosin hidroksilase. Neuron katekolaminergik terlihat berwarna coklat karena imunoreaktif terhadap antibodi tirosin hidroksilase. Pada rektum tikus yang diinjeksi akuades neuron yang imunoreaktif terhadap tirosin hidroksilase (panah pada Gambar A) terlihat lebih banyak dibandingkan pada tikus yang diinjeksi *paraquat dichloride* dosis 7 mg/kg bb (panah pada Gambar B).

interna dan lamina muskularis longitudinalis eksterna dari tunika muskularis. Pleksus submukosa terletak diantara tunika mukosa dan tunika muskularis, lebih tepatnya berada di tunika submukosa. Neuron pada kedua pleksus ini berbentuk pseudounipolar, bipolar, dan multipolar. Bentuk neuron pada SSE tikus ini sesuai dengan pendapat Mandic dkk [2] serta Waxenbaum dan Varacallo [9] yang menyatakan bahwa neuron pada sistem saraf enterik berbentuk bipolar, pseudounipolar, dan multipolar.

Pada penelitian ini perubahan struktur neuron pada kelompok hewan perlakuan berupa degenerasi dan nekrosis yang ditandai dengan badan Nissl tersebar ke tepi sitoplasma dan mulai menghilang (neuronal kromatolisis). Neuronal yang mengalami kromatolisis ditandai dengan hipertrofi perikarion, badan Nissl hancur, dan inti sel bergeser dari tempat semula [10] yang dapat menyebabkan hilangnya substansi Nissl secara parsial maupun total [11]. Kemungkinan terjadinya neuronal yang mengalami kromatolisis pada penelitian ini adalah akibat paparan PQ yang merupakan bahan kimia bersifat neurotoksik. Neuron

penyusun SSE yang mengalami degenerasi dan nekrosis kemungkinan karena efek toksik PQ dosis 7 mg/kg bb yang diinjeksikan secara intraperitoneal seminggu dua kali selama 3 minggu. Menurut [12] PQ merupakan senyawa yang toksik bagi neuron (*neurotoxicant*) akibat sifat radikal bebasnya dan menyebabkan stress oksidatif pada neuron karena banyaknya akumulasi produk ROS, sehingga paparan PQ menyebabkan inflamasi pada neuron. Hal ini didukung oleh pendapat Blesa *et al.* [5] serta Gawarammana dan Buckley [13] bahwa PQ memiliki efek toksik pada mitokondria sehingga dapat mengakibatkan disfungsi mitokondria dan stress oksidatif. *Paraquat dichloride* yang masuk ke tubuh dimetabolisme oleh beberapa sistem enzim seperti *Nikotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH)-cytochrome P450 reductase*, *xantin oksidase*, *Nikotinamide adenosine dinucleotide hydrogen (NADH)-ubiquinone oxidoreductase*, dan *nitrit oxide synthase*. Wang *et al* [14] menyatakan bahwa metabolisme PQ di tubuh mirip dengan *1-methyl-4phenyl-1,2,3,6-tetrahidropyridine (MP TP)* yaitu menghasilkan *1-methyl-4phenyl-2,3-*

*dyhidropyridinium* (MPP<sup>+</sup>), suatu metabolit yang bersifat toksik pada mitokondria dengan menghambat kompleks I rantai transfer elektron (RTE) mitokondria. Penurunan aktivitas kompleks I (NADH-*ubiquinone oxidoreductase*) RTE mitokondria menyebabkan terjadinya peningkatan produksi ROS, radikal bebas yang sangat reaktif di dalam mitokondria. Radikal bebas yang dihasilkan ini dapat merusak struktur dan fungsi mitokondria secara langsung sehingga menyebabkan terjadinya penurunan fungsi respirasi mitokondria dan produksi energi. Menurut Guo dan Chen [15], peningkatan kerusakan sel akibat stres oksidatif tersebut dapat meningkatkan respon inflamasi pada neuron. Proses degenerasi neuron atau proses neurodegeneratif diawali dengan adanya hal yang menginduksi inflamasi neuron [16]. Respon inflamasi merupakan respon imun terhadap stimuli yang berbahaya dan merupakan proses mengeliminasi penyebab cedera atau jejas sehingga terjadi proses kesembuhan [17]. Jejas tersebut dapat kembali normal apabila penyebab jejas dapat dihilangkan (*reversible*). Namun ketika jejas berlangsung secara menerus, maka akan terjadi jejas yang bersifat *irreversible* yang menyebabkan kematian sel [18].

Terjadinya nekrosis neuron pada penelitian ini merupakan suatu tanda gangguan proses biokimiawi pada neuron. [19] menyatakan bahwa salah satu jenis kematian sel saraf berdasarkan kriteria biokimia dan morfologi adalah nekrosis. Menurut [20] nekrosis pada neuron merupakan proses yang terjadi apabila neuron gagal melakukan regenerasi, sehingga neuron tersebut mengalami kematian neuron atau kerusakan neuron bersifat *irreversible*. Secara mikroskopis nekrosis ditandai dengan inti yang piknotik, karioreksis, atau kariolisis. Nukleus yang piknotik ditandai dengan nucleus yang mengecil karena mengalami kondensasi. Karioreksis ditandai dengan nukleus yang dapat hancur (terfragmentasi) dan robek sehingga dapat meninggalkan pecahan-pecahan zat kromatin yang tersebar di dalam neuron [18]. Kariolisis ditandai dengan nukleus

yang hilang, terdapat residu dari sel yang berbentuk vakuola, dan debris dari sel yang membentuk masa fragmen di sekitar nukleus [21].

Hasil pengamatan imunohistokimia menggunakan antibodi TH pada neuron penyusun pleksus submukosa dan pleksus mienterikus menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah neuron katekolaminergik pada kelompok perlakuan juga neuron yang menjadi lebih kecil. Hasil ini sejalan dengan hasil pengamatan histologi usus yang diwarnai menggunakan *cresyl violet* pada penelitian ini yaitu penurunan jumlah neuron katekolaminergik akibat terjadinya nekrosis neuron pada kelompok perlakuan. Mengecilnya ukuran neuron katekolaminergik pada kelompok perlakuan kemungkinan karena proses degenerasi. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian PQ juga menyebabkan penurunan densitas neuron katekolaminergik pada substansia nigra pars kompakta tikus [22] serta terjadi penurunan jumlah neuron katekolaminergik [23]. Ada 3 macam neuron katekolaminergik yaitu neuron dopaminergik, noradrenergik dan adrenergik. Neuron dopaminergik yang dihasilkan di mesensefalon bagian ventral yaitu di substansia nigra pars kompakta, berfungsi untuk mengontrol gerak tubuh yaitu mengawali dan mengakhiri gerak dan apabila neuron ini mengalami kerusakan maka timbul gejala klinis gerak yang kaku, tremor yang menjadi ciri penyakit PP. Hasil penelitian ini mendukung peringatan akan bahaya penggunaan PQ yang tidak tepat karena menyebabkan perubahan struktur neuron katekolaminergik pada usus halus dan usus besar sebagai komponen dari sistem saraf enterik yang merupakan bagian dari sistem saraf tepi.

## KESIMPULAN

Pemberian *paraquat dichloride* menyebabkan penurunan jumlah neuron katekolaminergik pada usus halus dan usus besar tikus, juga menyebabkan perubahan struktur neuron pada sistem saraf enterik usus halus dan usus besar berupa terjadinya degenerasi dan nekrosis.

## KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak manapun terkait materi yang ditulis dalam naskah ini.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Hewan yang telah mendanai penelitian ini melalui Dana Hibah Penelitian Pengembangan Departemen dengan Nomor Kontrak: 1022/J01.1.22/HK4/2019 dan 1346/UN1/FKH/HK4/2020.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Furness, J. B. 2006. *The Enteric Nervous System*. Blackwell Publishing, Inc. Denmark. p. 31-43.
2. Mandić P., T. Filipović, M. Gasić, N. Djukić-Macut, M. Filipović, and I. Bogosavljević. 2016. Quantitative morphometric analysis of the myenteric nervous plexus ganglion structures along the human digestive tract. *Vojnosanit. Pregl.* 73:559–565. Doi: 10.2298/vsp141231046m
3. Hana, A., P. Astuti, Y. Fibrianto, S. Sarmin, dan C. Arifin. 2015. Profil saraf nitroergik sekum ayam pedaging yang diinfeksi *eimeria tenella*. *Jurnal Veteriner*, 16(4):468-473.
4. Mazzuoli, G. and M. Schemann. 2012. Mechanosensitive enteric neurons in the myenteric plexus of the mouse intestine. *PlosOne*. 7(2):1-9. Doi: 10.1371/journal.pone.0039887
5. Blesa, J., S. Phani, V. Jackson-Lewis, and S. Przedborski. 2012. Classic and new animal models of parkinson's disease. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012:1-10.
6. Kim, J. and H. Sung. 2015. Gastrointestinal autonomic dysfunction in patients with parkinson's disease. *J Mov Disord* 8(2):76-82. Doi: 10.14802/jmd.15008
7. Niso-Santano, M., J. M. Moran, L. Garcia-Rubio, A. Gomez- Martin, and R. A. Gonzalezpolo. 2006. Low concentrations of paraquat induces early activation of extracellular signal regulated kinase 1/2, protein kinase B, and C-Jun N terminal kinase 1/2 pathways: role of c-Jun N-terminal kinase in paraquat induced cell death. *Toxicol. Sc.* (2):507-15. Doi: 10.1093/toxsci/kfl013
8. Anita, H. P. Sharma, P. Jain, and P. Amit. 2014. Apoptosis (Programmed Cell Death) - A Review. *WJPR.* 3(4): 1854-1872.
9. Waxenbaum, J. A., and M. Varacallo. 2019. *Anatomy, autonomic nervous system*. StatPearls Publishing. USA. pp. 86-88.
10. Emril, D. R. 2010. Peran cytidine 5'-diphosphocoline dalam penatalaksanaan nyeri neuropatik. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala.* 2010(1):51-62.
11. Moon, L. D. F. 2018. Chromatolysis: Do injured axons regenerate poorly when ribonucleases attack rough endoplasmic reticulum, ribosomes and RNA? *Dev. Neurobiol.* 78(10):1011–1024. Doi: 10.1002/dneu.22625
12. Wu, B., B. Song, H. Yang, B. Huang, B. Chi, V. Guo, and H. Liu. 2013. Central nervous system damage due to acute paraquat poisoning: An experimental study with rat model. *Neurotoxicology.* 1(35):62-70. Doi: 10.1016/j.neuro.2012.12.001
13. Gawarammana, I. B., dan N. A. Buckley. 2011. Medical management of paraquat ingestion. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 72(5): 745-757. Doi: 10.1111/j.1365-2125.2011.04026.x
14. Wang, Q., N. Ren, Z. Cai, Q. Lin, Z. Wang, Q. Zhang, S. Wu, and H. Li. 2017. Paraquat and MPTP induce neurodegeneration and alteration in the expression profile of microRNAs: the role of transcription factor Nrf2. *NPJ Parkinsons Dis.* 3 (31):1-10. Doi: 10.1038/s41531-017-0033-1
15. Guo, C. and P. Chen. 2012. Mitochondrial free radicals, antioxidants, nutrient substances, and chronic hepatitis C. In: El-Missiry, M. A. 2012. *Antioxidant Enzyme*. IntechOpen. Croatia. 237. Doi: 10.5772/51315
16. Reynolds, A. D., R. Banerjee, J. Liu, H. E. Gendelman, and R. L. Mosley. 2010. Neuroprotective activities of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Neuroimmune Biol.* 9(17): 197-210. Doi: 10.1189/jlb.0507296



17. Chen, L., H. Deng, H. Cui, J. Fang, Z. Zuo, J. Deng, Y. Li, X. Wang, and L. Zhao. 2017. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. *Oncotarget*. 9(6):7204-7218. Doi: 10.18632/oncotarget.23208
18. Kumar, V., A. K. Abbas, N. Fausto, and Aster, J. C. 2009. *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease E-Book*. 8<sup>th</sup> ed. Elsevier Health Sciences. Philadelphia. p 3-14.
19. Franco, R., S. I. Li, H. Rodriguez-Rocha, M. M. I. M. Burns, and Panayiotidis. 2010. Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to parkinson's disease. *Chem. Biol. Interact.* 188(2):289-300. Doi: 10.1016/j.cbi.2010.06.003
20. Miller, M. A. dan J. F. Zachary. 2017. Mechanisms and morphology of cellular injury, adaptation, and death. In: J. F. Zachary, ed. *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. London: Elsevier. 2-43. Doi: 10.1016/B978-0-323-35775-3.00001-1
21. Boudreau, M. D., H. W. Taylor, D. G. Baker, and J. C. Means. 2006. Dietary exposure to 2-aminoanthracene induces morphological and immunocytochemical changes in pancreatic tissue of fisher 344 rats. *J. Toxicol. Sci.* 93: 50-61. Doi: 10.1093/toxsci/kfl033
22. Pangestinarsih, T. W., W. D. Wendo, Y. N. Selan, F. A. Amalo, N. A. Ndoang, and V. Lenda. 2014. Histological features of catecholaminergic neuron in substantia nigra induced by paraquat dichloride (1,1-dimethyl-4,4 bipirydinium) in Rat as a Model of Parkinson Disease. *Indonesian J. Biotech.* 10(1):91-98. Doi: 10.22146/ijbiotech.8638
23. Adi, Y. K., R. Widayanti, and T. W. Pangestinarsih. 2018. n-Propanol extract of boiled and fermented koro benguk (*Mucuna pruriens* seed) shows a neuroprotective effect in paraquat dichloride-induced Parkinson's disease rat model. *Vet. World.* 11(9),1250-1254. Doi: 10.14202/vetworld.2018.1250-1254