

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam.)
TERHADAP PROLIFERASI LIMFOSIT PADA MENCIT JANTAN GALUR
Swiss-Webster YANG DIINOKULASI *Listeria monocytogenes*

Evan Kristiono, 2008 Pembimbing I : Sylvia Soeng, dr, M.Kes
 Pembimbing II : Khie Khiong, SSi, MSi., MPharm.Sc, PhD

Buah Merah banyak dikonsumsi sebagai suplemen untuk menjaga kesehatan tubuh. Oleh sebab itu diperlukan penelitian untuk membuktikan khasiat dari buah ini.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh ekstrak Buah Merah terhadap proliferasi limfosit pada mencit jantan galur *Swiss-Webster* yang diinokulasi *Listeria monocytogenes*.

Penelitian ini menggunakan desain, prospektif eksperimental sungguhan bersifat komparatif dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Ekperimen dilakukan secara *in vivo* pada mencit jantan galur *Swiss-Webster* yang diberi beberapa dosis ekstrak Buah Merah (0,05 ml; 0,1 ml; dan 0,2 ml) per *oral*; dan *Aquadest* per *oral* sebagai kontrol negatif. Pada hari ke-10, mencit diinokulasi *L. monocytogenes* sebanyak 2×10^5 CFU. Parameter yang diamati adalah proliferasi limfosit mencit setelah perlakuan selama 14 hari.

Setelah limfosit T dan leukosit non T diisolasi menggunakan *quadraMACS kit*, dilakukan kultur sel dan proliferasi limfosit diukur menggunakan metode *MTT assay* dengan alat ELISA. Data dianalisis dengan *One-Way ANOVA* dilanjutkan Tukey HSD dengan tingkat kepercayaan $\alpha = 0,05$.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat penurunan signifikan dari proliferasi leukosit non-T pada dosis 0,1 ml ($p < 0,05$); namun, didapatkan peningkatan yang sangat signifikan pada dosis 0,2 ml ($p < 0,01$). Proliferasi limfosit T meningkat signifikan pada dosis 0,05 ml dan 0.2 ml ($p < 0,05$).

Dapat disimpulkan bahwa ekstrak Buah Merah 0,2 ml dapat meningkatkan proliferasi leukosit non T pada mencit jantan galur *Swiss-Webster* yang diinokulasi *L. monocytogenes*.

Kata kunci : Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.), *Listeria monocytogenes*, proliferasi sel limfosit non-T, proliferasi sel limfosit T.

ABSTRACT

*THE EFFECT OF RED FRUIT (*Pandanus conoideus* Lam.) EXTRACT TOWARDS LYMPHOCYTE PROLIFERATION ON MALE Swiss-Webster MICE INOCULATED WITH *Listeria monocytogenes**

Evan Kristiono, 2008 Tutor I : Sylvia Soeng, dr., M.Kes.
 Tutor II : Khie Khiong, S.SI., MSi., MPharm.Sc, PhD

*A study on Red Fruit (*Pandanus conoideus* Lam.) was done to clarify the Red Fruit effects to lymphocyte proliferation on male Swiss-Webster mice inoculated by *Listeria monocytogenes*.*

*The method of this research is comparative, prospective laboratory experiment with complete randomize trial design. Six groups (n=5) of Swiss-Webster male mice were treated with aquadest (negative control and List group); 0,2 ml Red Fruit Extract (BM) and 0,05 ml ; 0,1 ml; 0,2 ml Red Fruit extract for group I, II, III. on 10th day, List, I, II, III groups induced by 2x10⁵ CFU of *L. monocytogenes*. All the mice were sacrificed on the 15th day, lymphocyte were obtained from spleen, cultured, and the proliferation of them were measured using MTT assay method.*

Data were analyzed by One-Way ANOVA continued with Tukey HSD ($\alpha=0,05$). Result showed that T lymphocyte proliferation of Red Fruit-treated mice at dose 0.05 ml and 0.2 ml significantly decreased compared to other groups. Although, at LPS 0.1 μ g/ml, the proliferation of Non T leucocyte of Red Fruit –treated mice decrease significantly at dose 0.1 ml; however, the proliferation would increase significantly at dose 0,2 ml.

*As conclusion, Red Fruit extract 0.2 ml could increase leucocyte non T proliferation on male Swiss-Webster mice inoculated with *L. monocytogenes*.*

*key word: Red Fruit, *Pandanus conoideus* Lam, *Listeria monocytogenes*, proliferation T Lymphocyte, proliferation non T Leucocyte*

DAFTAR ISI

Judul Dalam	(i)
Lembaran persetujuan	(ii)
Surat Pernyataan	(iii)
Abstrak.....	(iv)
<i>Abstract</i>	(v)
Prakata	(vi)
Daftar isi.....	(viii)
Daftar Tabel.....	(xii)
Daftar Gambar	(xiii)
Daftar Grafik	(xiv)
Daftar Lampiran.....	(xv)

BAB I PENDAHULUAN

1.1	Latar Belakang masalah	1
1.2	Identifikasi masalah	2
1.3	Maksud dan Tujuan.....	2
	1.3.1 Maksud.....	2
	1.3.2 Tujuan.....	2
1.4	Manfaat Karya Tulis Ilmiah.....	2
	1.4.1 Manfaat Akademik.....	2
	1.4.2 Manfaat Praktis	3
1.5	Kerangka pemikiran dan Hipotesis.....	3
	1.5.1 Kerangka pemikiran	3
	1.5.2 Hipotesis.....	4
1.6	Metodologi	4
1.7	Lokasi dan Waktu penelitian.....	5

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1	<i>Listeria monocytogenes</i>	6
2.2	Buah Merah.....	8
	2.2.1 Morfologi Buah Merah.....	9
	2.2.2 Kandungan Buah Merah.....	10
	2.2.3 Vitamin E	11
2.3	Sistem Imun.....	12
	2.3.1 Respon Imun non-Adaptif.....	13
	2.3.1.1 Pertahanan Selular.....	14
	2.3.1.2 Komplemen	16
	2.3.2 Respon Imun Adaptif	16
	2.3.2.1 Pematangan Limfosit	16
	2.3.2.2 Respon Imun Humoral	17
	2.3.2.3 Respon Imun Selular.....	19
2.4	MTT Assay	20

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1	Alat dan Bahan	21
3.2	Persiapan Hewan Coba	23
3.3	Metode Penarikan Sampel.....	23
3.4	Pemilihan Tanaman dan Persiapan Bahan Uji	23
3.5	Persiapan Penelitian	24
	3.5.1 Sterilisasi Alat	24
	3.5.2 Pembuatan Medium RPMI 1640	24
	Pembuatan RPMI-complete (RPMI-c)	24
	3.5.3 Pembuatan Larutan Stok Penicillin G(10^5 U/ml)	25
	3.5.4 Pembuatan Larutan Stok Streptomycin	
	(100 mg/ml).....	25
	3.5.5 Pembuatan Larutan Stok 2-mercaptoethanol	
	(2 μmol).....	25
	3.5.6 Pembuatan Larutan MTT	26

3.5.7	Pembuatan MACS <i>Buffer</i>	26
3.5.8	Pembuatan Larutan <i>Lysing Buffer</i> (NH ₄ Cl 0,165 M).....	26
3.5.9	<i>Thawing</i> dan <i>Heat Inactivated</i> FBS.....	26
3.5.10	Pengenceran Berseri (Serial Dilution) LPS.....	27
3.5.11	Pembuatan Larutan <i>Anti-mouse</i> CD3 dan <i>Anti-mouse</i> CD28 (0.5µl/ml).....	27
3.5.12	Persiapan 96-wells ELISA <i>Culture Plate</i> Steril	27
3.6	Metode Penelitian	28
3.6.1	Desain Penelitian.....	28
3.6.2	Variabel Penelitian.....	28
3.7	Prosedur Penelitian	29
3.7.1	Penentuan Perlakuan Hewan Coba.....	29
3.7.2	Isolasi Sel (<i>Single Cell Suspension</i>)	30
3.7.3	Isolasi Sel Leukosit non-T.....	30
3.7.4	Isolasi Sel Limfosit T.....	31
3.7.5	Penghitungan Jumlah Leukosit Non T dan Limfosit T.....	32
3.7.6	Pengukuran Proliferasi Limfosit (ELISA).....	32
3.7.6.1	Sel Leukosit non-T.....	32
3.7.6.2	Sel Limfosit T.....	33
3.7.6.3	MTT <i>Assay</i>	33
3.7.6.4	Data yang Diamati.....	34
3.8	Analisis Statistik	34
3.8.1	Hipotesis Statistik.....	34
3.8.2	Kriteria Uji.....	34

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Hasil Penelitian	35
4.1.1	Hasil Proliferasi Leukosit Non T	35
4.1.2	Hasil Proliferasi Limfosit T	42

4.2 Pembahasan	46
4.3 Uji Hipotesis	48

Bab V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49

DAFTAR PUSTAKA.....	50
----------------------------	-----------

RIWAYAT HIDUP.....	64
---------------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi per 100 gram Buah Merah.....	10
Tabel 2.2 Kandungan Senyawa Kimia Sari Buah Merah	11
Tabel 4.1 Rata-rata Proliferasi Sel Leukosit Non T	35
Tabel 4.2 Hasil Uji Statistik <i>One-Way</i> ANOVA dari Rata-rata Proliferasi Sel Leukosit Non T Tanpa Menggunakan LPS.....	37
Tabel 4.3 Hasil Uji Statistik <i>One-Way</i> ANOVA dari Hasil Rata-rata Proliferasi Sel Limfosit Non T Menggunakan LPS 0,1 µg/ml.....	38
Tabel 4.4 Rata-rata Proliferasi Leukosit Non T dengan Menggunakan LPS 0,1 µg/ml Berdasarkan Uji Beda Rata-rata Metode Tukey <i>HSD</i>	39
Tabel 4.5 Hasil Uji Statistik <i>One-Way</i> ANOVA dari Rata-rata Proliferasi Sel Leukosit Non T Menggunakan LPS 1 µg/ml	40
Tabel 4.6 Berdasarkan Uji Statistik <i>One-Way</i> ANOVA Rata-rata Proliferasi Sel Limfosit Non-T Menggunakan LPS 10 µg/ml	41
Tabel 4.7 Rata-rata Proliferasi Sel Limfosit T Dengan dan Tanpa Menggunakan Anti-CD3/CD28	42
Tabel 4.8 Rata-rata Proliferasi Sel Limfosit T Tanpa Anti-CD3/CD28 Berdasarkan Uji Statistik <i>One-Way</i> ANOVA	43
Tabel 4.9 Rata-rata Proliferasi Limfosit T Tanpa Menggunakan Anti CD3/CD28 Berdasarkan Uji Beda Rata-rata Metode Tukey <i>HSD</i>	44
Tabel 4.10 Rata-rata Proliferasi Sel Limfosit T Dengan Menggunakan Anti CD3/CD28 Berdasarkan Uji Statistik <i>One-Way</i> ANOVA	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Listeria monocytogenes</i>	6
Gambar 2.2 Virulensi <i>L. Monocytogenes</i>	8
Gambar 2.3 Buah Merah Ekstrak Buah Merah.....	10
Gambar 2.4 Perkembangan Sel Imun	15

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1	Rata-rata Proliferasi Sel Leukosit Non T dengan Berbagai Konsentrasi LPS 36
Grafik 4.2	Rata-rata Proliferasi Sel Limfosit T Dengan dan Tanpa Menggunakan Anti-CD3/CD28..... 42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Dosis Buah Merah.....	53
Lampiran 2	Hasil Pengukuran ELISA dari Leukosit Non T	
	Tanpa Menggunakan LPS.....	54
Lampiran 3	Hasil Pengukuran ELISA dari Leukosit Non T	
	Menggunakan LPS 0,1 µg/ml	55
Lampiran 4	Hasil Pengukuran ELISA dari Leukosit Non T	
	Menggunakan LPS 1 µg/ml	58
Lampiran 5	Hasil Pengukuran ELISA dari Leukosit Non T	
	Menggunakan LPS 10 µg/ml	59
Lampiran 6	Hasil Pengukuran ELISA dari Limfosit T	
	Tanpa Menggunakan Anti CD3/CD28.....	60
Lampiran 7	Hasil Pengukuran ELISA dari Limfosit T	
	Menggunakan Anti CD3/CD28	63