

ABSTRAK

PENGARUH EKSTRAK BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lam) TERHADAP PROLIFERASI SEL LEUKOSIT MENCIT JANTAN GALUR DDY YANG DIINDUKSI KOLITIS DENGAN DSS

Elsa Angelie, 2008

Pembimbing I : Khie Khiong, M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D

Pembimbing II : Sylvia Soeng, dr., M.Kes.

Ulcerative Colitis (UC) merupakan inflamasi kronis pada mukosa kolon yang dapat disebabkan oleh kegagalan regulasi sistem imun. *Dextran Sulfate Sodium* (DSS) dapat menginduksi kolitis pada hewan coba dengan gambaran yang sama dengan UC pada manusia. Konsumsi Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam) diasumsikan dapat meningkatkan sistem imun tubuh.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran Buah Merah terhadap proliferasi sel leukosit pada mencit yang diinduksi kolitis dengan DSS.

Penelitian bersifat prospektif eksperimental komparatif laboratorium sungguhan dengan Rancang Acak Lengkap (RAL). Mencit jantan galur *DDY* berumur 7 minggu, dibagi dalam 6 kelompok ($n=5$). Kelompok kontrol negatif dan kelompok I diberi aquadest, kelompok II hanya diberi ekstrak Buah Merah 0,4 ml. Kelompok perlakuan yaitu kelompok III, IV, V berturut-turut diberi ekstrak Buah Merah dengan dosis 0,1 ml; 0,2 ml dan 0,4 ml. Pada hari ke-15, kelompok I, III, IV, V diinduksi DSS 2.5% melalui air minum selama 10 hari. Pada hari ke-25 mencit dikorbankan, diambil limpanya untuk dilakukan pengukuran proliferasi sel leukosit non-T dan limfosit T dengan metode MTT assay menggunakan ELISA reader.

Data diolah secara statistik dengan metode *One-way ANOVA*, dilanjutkan dengan Tukey *HSD*. Ekstrak Buah Merah 0,1 ml dan 0,4 ml dapat meningkatkan proliferasi leukosit non-T dengan pemberian mitogen (LPS) 1 $\mu\text{g/ml}$ dan 10 $\mu\text{g/ml}$ secara bermakna. Ekstrak Buah Merah 0,1 ml juga dapat meningkatkan proliferasi sel limfosit T secara bermakna dibandingkan kontrol negatif, tetapi bila dibandingkan kelompok I (DSS), ekstrak Buah Merah tidak meningkatkan proliferasi limfosit T.

Dapat ditarik kesimpulan bahwa pada UC, ekstrak Buah Merah meningkatkan proliferasi sel leukosit non-T maupun limfosit T secara bermakna.

Kata kunci: *Ulcerative colitis*, ekstrak Buah Merah, proliferasi leukosit dan limfosit, *Dextran Sulfate Sodium* (DSS)

ABSTRACT

THE EFFECT OF RED FRUIT (*Pandanus conoideus* Lam) EXTRACT TOWARDS LEUKOCYTES PROLIFERATION IN DSS-INDUCED COLITIS DDY MALE MICE

Elsa Angelie, 2008

Supervisor I : Khie Khiong, M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D
Supervisor II : Sylvia Soeng, dr., M.Kes.

Ulcerative colitis (UC) is a chronic inflammatory disease of colonic mucosa, which can be caused by immune regulation failure. Dextran Sulfate Sodium (DSS) can induce colitis in animal models and give a similar features as UC in human. In Papua, Red Fruit is consumed as daily food and they are always in a good health condition.

The aim of this research was to examine the role of Red Fruit extract towards leucocytes proliferation in colitis mice induced by DSS.

The method of this research was comparative, prospective laboratory experiment with complete Randomized Trial Design. Six groups (n=5) of DDY male mice were treated with aquadest (negative control / group I); 0.4 ml Red Fruit extract (group II) and 0.1 ml; 0.2 ml; 0.4 ml Red Fruit extract for Group III, IV and V. On 15th day, group I, III, IV and V induced by 2.5 % DSS for 10 days. All the mice were humanly sacrificed on the 25th day, lymphocytes 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 ($\alpha = 0.05$). Red Fruit extract 0.1 ml and 0.4 ml with mitogen (LPS) 1 μ g/ml and 10 μ g/ml increased non-T leucocytes proliferation significantly. Red Fruit extract 0.1 ml could also increase significantly T lymphocytes.

As conclusions, Red Fruit extract can increase non-T leucocytes and T lymphocytes proliferation significantly.

Key words: *Ulcerative colitis, Red Fruit extract, leucocytes and lymphocytes proliferation, Dextran Sulfate Sodium (DSS)*

DAFTAR ISI

Judul	i
Lembar Persetujuan	ii
Surat Pernyataan	iii
Abstrak	iv
Prakata	vi
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xi
Daftar Tabel	xii
Daftar Grafik	xiii
Daftar Lampiran	xiv

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Identifikasi Masalah	2
1.3. Maksud dan Tujuan	2
1.4. Manfaat Penelitian.....	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	4

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Imunitas	6
2.1.1 Komponen Sistem Imun.....	7
2.1.2 Sistem Imun Non-Spesifik	11
2.1.3 Sistem Imun Spesifik	12
2.1.4 Sel Limfosit	14

2.1.5 Sel Makrofag	20
2.1.6 Respon Limfosit Terhadap Stimulasi	21
2.1.7 Respon Imun Terhadap Infeksi	23
2.2 <i>Ulcerative Colitis</i> (UC).....	25
2.2.1 Epidemiologi	25
2.2.2 Etiologi.....	25
2.2.3 Patogenesis	26
2.2.4 Gambaran Histopatologis.....	27
2.2.5 Model Hewan Kolitis.....	28
2.3 Buah Merah (<i>Pandanus conoideus</i> Lam)	28
2.3.1 Klasifikasi Buah Merah	29
2.3.2 Morfologi Buah Merah	29
2.3.3 Kandungan Kimia Buah Merah.....	31
2.3.4 Antioksidan	33
2.3.5 Kandungan Antioksidan Buah Merah.....	35

BAB III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan	37
3.2 Pemilihan Tanaman dan Persiapan Bahan Uji.....	39
3.2.1 Ekstraksi Buah Merah.....	39
3.3 Persiapan Penelitian.....	39
3.3.1 Sterilisasi Alat	39
3.3.2 Pembuatan Medium RPMI 1640 (<i>incomplete</i>).....	40
3.3.3 Pembuatan Medium RPMI- <i>complete</i> (RPMI-c).....	40
3.3.4 Pembuatan Larutan MTT	41
3.3.5 Pembuatan MACS <i>Buffer</i>	41
3.3.6 Pembuatan Larutan <i>Lysis Buffer</i>	42
3.3.7 <i>Thawing</i> dan <i>Heat Inactivated</i> FBS.....	42
3.3.8 Pengenceran Berseri (<i>Serial Dilution</i>) LPS	42
3.3.9 Pembuatan Larutan <i>anti-mouse</i> CD3 dan <i>anti-mouse</i> CD28	42
3.3.10 Persiapan 96-wells ELISA <i>culture plate</i> steril	43

3.4 Metode Penelitian	43
3.4.1 Desain Penelitian	43
3.4.2 Prosedur Penelitian	44
3.4.3 Pengukuran Hasil Penelitian	48
3.5 Data yang Diamati	48
3.6 Analisis Data	48
3.6.1 Hipotesis Statistik	49
3.6.2 Kriteria Uji	49

BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian	50
4.1.1 Proliferasi Sel Leukosit Non-T.....	50
4.1.2 Proliferasi Limfosit T.....	57
4.2 Pembahasan.....	60

BAB V.KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan	66
5.2 Saran	66

DAFTAR PUSTAKA	67
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN	71
-----------------------	-----------

RIWAYAT HIDUP	93
----------------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Asal sel-sel darah	7
Gambar 2.2	Distribusi jaringan limfoid di seluruh tubuh	9
Gambar 2.3	Gambaran skematis limpa	10
Gambar 2.4	Interaksi limfosit dengan sel dendritik.....	12
Gambar 2.5	Interaksi molekul ko-stimulator	16
Gambar 2.6	Reseptor-reseptor makrofag	20
Gambar 2.7	Gambaran histopatologis mukosa kolon <i>Ulcerative Colitis</i>	27
Gambar 2.8	Buah Merah yang telah dibuang empulurnya.....	29
Gambar 2.9	Buah Merah kultivar merah panjang	30
Gambar 2.10	Peran antioksidan dalam mencegah kerusakan sel	34

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kandungan Senyawa Aktif dalam Sari Buah Merah.....	31
Tabel 2.2	Komposisi Gizi per 100 gram Buah Merah	32
Tabel 2.3	Kandungan Karoten.....	32
Tabel 2.4	Kandungan Betakaroten.....	32
Tabel 2.5	Kandungan Tokoferol.....	33
Tabel 4.1	Rata-Rata Jumlah Sel Leukosit Non-T Pada Setiap Kelompok Perlakuan.....	50
Tabel 4.2	Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode <i>Tukey</i> -HSD Jumlah Sel Leukosit Non-T Dengan LPS 1 µg/ml	53
Tabel 4.3	Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode <i>Tukey</i> -HSD Jumlah Sel Leukosit Non-T Dengan LPS 10 µg/ml	55
Tabel 4.4	Jumlah Limfosit T Pada Setiap Kelompok Perlakuan.....	57
Tabel 4.5	Hasil Uji Beda Rata-Rata Metode <i>Tukey</i> -HSD Jumlah Limfosit T Menggunakan <i>anti-mouse</i> CD3 dan <i>anti-mouse</i> CD28	59

DAFTAR GRAFIK

Grafik 4.1 Perbandingan rata-rata jumlah sel leukosit non-T	56
Grafik 4.2 Perbandingan rata-rata jumlah limfosit T	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Penghitungan Statistik SPSS 15.0 untuk Pengujian Pengaruh Ekstrak Buah Merah Terhadap Proliferasi Sel Leukosit non-T Tanpa Menggunakan LPS	71
Lampiran 2	Penghitungan Statistik SPSS 12 untuk Pengujian Pengaruh Ekstrak Buah Merah Terhadap Proliferasi Sel Leukosit non-T Menggunakan LPS 0,1 µg/ml.....	74
Lampiran 3	Penghitungan Statistik SPSS 12 untuk Pengujian Pengaruh Ekstrak Buah Merah Terhadap Proliferasi Sel Leukosit non-T Menggunakan LPS 1 µg/ml.....	77
Lampiran 4	Penghitungan Statistik SPSS 12 untuk Pengujian Pengaruh Ekstrak Buah Merah Terhadap Proliferasi Sel Leukosit non-T Menggunakan LPS 10 µg/ml.....	80
Lampiran 5	Penghitungan Statistik SPSS 15.0 untuk Pengujian Pengaruh Ekstrak Buah Merah Terhadap Proliferasi Limfosit T Tanpa Menggunakan <i>anti-mouse</i> CD3 dan <i>anti-mouse</i> CD28.....	83
Lampiran 6	Penghitungan Statistik SPSS 15.0 untuk Pengujian Pengaruh Ekstrak Buah Merah Terhadap Proliferasi Limfosit T Menggunakan <i>anti-mouse</i> CD3 dan <i>anti-mouse</i> CD28.....	86
Lampiran 7	Penghitungan Dosis.....	89
Lampiran 8	Gambar	90